

201132032A

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

材料／細胞・組織界面特性に着目した医用材料の  
新規評価方法の開発に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松岡厚子

平成 24 (2012) 年 4 月

## 目次

### I. 総括研究報告

材料／細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 松岡 厚子	1
--	---

### II. 分担研究報告

1. プロテオミクス解析を利用した医用材料の生体適合性・機能評価に関する研究 齧島 由二	15
2. 自己組織化膜を利用したモデル表面材料調製と細胞機能を利用した細胞挙動解析 中岡 竜介	35
3. アパタイト形成におけるイオン吸着挙動の解析 伊佐間和郎	46
4. 遺伝子発現の網羅的解析を利用した医用材料上で培養した細胞の生化学的・生物学的試験 澤田 留美	57
5. 生体適合性材料の機能と生物学的特性評価に関する検証試験 加藤 玲子	75
6. 整形インプラント材料の界面特性に着目した新規評価方法の開発 迫田 秀行	87
7. 分子シミュレーションを用いた材料表面水和状態の検討 植松 美幸	103
8. 表面処理を行った整形インプラント材料の潤滑状態の検討 石川 格	111
9. 材料表面近傍の水和状態とタンパク質吸着挙動解析 石原 一彦	124

10. 生体適合性高分子の合成と水の構造解析 田中 賢	131
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	135
IV. 研究成果の刊行物・別刷り	137

# I. 総括研究報告

## 総括研究報告書

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

「材料／細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究」

研究代表者 松岡厚子 国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部長

### 研究要旨

#### 1. 実験研究の部

医用材料の生体適合性は、種々の溶出物や残留物質等の毒性、微生物汚染に由来する感染因子のほか、材料表面の物理化学的特性に大きく影響される。本研究では、材料表面と細胞の界面で観察される事象と、その結果、細胞で観察される事象との比較を行い、従来法より迅速、高感度に医用材料の生体適合性を評価できる新規手法の探索を目的とする。

今年度は、材料としてはジルコニウム、チタン、自己組織化膜、UHMWPE、PMEA、PEEK などを用いた。界面では、水和状態、イオン吸着、アパタイト形成、タンパク質吸着及び摩擦係数を、細胞では、遺伝子発現、タンパク質発現及び細胞間連絡機能を観察対象とした。その結果、ジルコニウムについて、イオン吸着及びアパタイト形成の観点から、昨年度のチタンと同様のアルカリ処理の影響が観察されることが判明した。昨年度、チタン上で培養したヒト間葉系幹細胞では、増殖用培地での培養時期にも、骨分化傾向を示す遺伝子発現の変化が観察されていたが、今年度、チタンのアルカリ処理によって、より強い骨分化傾向を示すことが判明し、これは、上記イオン吸着及びアパタイト形成の研究結果と良く相関していた。また、材料近傍の水分子の状態について、(メタ)アクリレート及びポリスルホベタインメタクリレートを用いて、低温結晶形成として観測される中間水の構造に共通の特徴が見られ、一方、双性イオン性ポリマーでは材料表面近傍の水が高い運動性をもち、水和層厚が大きいいため、タンパク質との相互作用がほとんどないことが判明した。分子動力的シミュレーションにより、PMEA の特定の条件下での立体構造を示した。

#### 2. 行政研究の部

昨年度その原案作成までを完了した、平成 15 年 2 月 13 日付け医薬審発第 0213001 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」及び平成 15 年 3 月 19 日付け事務連絡医療機器審査 No. 36「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料」の改正作業を継続し、改正版を平成 24 年 3 月 1 日付け薬食機発 0301 第 20 号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知「医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」として発出した。

研究分担者		佐藤 秀隆	財団法人 日本食品分析 センター 総合企画部
齋島 由二	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 室長	坂口 圭介	テルモ株式会社 研究開発本部
中岡 竜介	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 室長	谷川 隆洋	テルモ株式会社 研究開発本部
伊佐間 和郎	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長	安江 靖子	株式会社メニコン 研究企画管理部
澤田 留美	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 室長	藤井 道子	独立行政法人 医薬品医療 機器総合機構
加藤 玲子	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 主任研究官	尾崎 正康	キャノン株式会社 品質本部
迫田 秀行	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 主任研究官	勝田 真一	財団法人 日本食品分析 センター 千歳研究所
植松 美幸	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 主任研究官	畔上 二郎	財団法人 食品薬品安全 センター 秦野研究所
石川 格	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 研究員	高島 宏昌	財団法人 食品薬品安全 センター 秦野研究所
石原 一彦	東京大学大学院工学系研究科 教授	酒井 良忠	東レ・メディカル株式会社
研究協力者		オブザーバー	
田中 賢	山形大学大学院理工学研究科 教授	牧村 知美	厚生労働省医薬食品局審査 管理課医療機器審査管理室
井上 祐貴	東京大学大学院工学系研究科 助教	羽田 幸祐	厚生労働省医薬食品局審査 管理課医療機器審査管理室
河上 強志	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 研究員		本文で使用される略号
長谷川千恵	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部		C-PET: ポリエチレンテレフタレート
			CTA: 三酢酸セルロース
			PEEK: ポリエーテルエーテルケトン
			PMEA: ポリ(2-メトキシエチル- アクリレート)
			PS: ポリスチレン
			PSF: ポリビニルピロリドン含有ポリ- スルホン
医療機器の生物学的安全性試験法検討会			
山影 康次	財団法人 食品薬品安全 センター 秦野研究所		
金澤由基子	独立行政法人 医薬品医療 機器総合機構		

PTFE: ポリテトラフルオロエチレン

UHMWPE: 超高分子量ポリエチレン

## A. 研究目的

医用材料の生体適合性は、種々の溶出物や残留物質等の毒性、微生物汚染に由来する感染因子のほか、材料表面の物理化学的特性に大きく影響される。これは、医用材料が細胞や組織のような生きた生体システムと接触し、その界面（バイオインターフェース）で起こる分子間相互作用を介して機能を発揮することに由来する。医用材料を生体内に埋植すると、材料表面に水やイオンが速やかに吸着し、次いで生体タンパク質の吸着が起こる。すなわち、医用材料と細胞は吸着タンパク質層を介して相互作用するため、同タンパク質は材料の機能発現や生体適合性に大きく関与すると考えられている。また、初期のイオン吸着動態はタンパク質吸着のほか、アパタイト形成にも影響すると共に、材料表面の水和状態は血液適合性（抗血栓性）の要因であるタンパク質吸着能や細胞接着能のほか、人工関節の耐摩耗性にも深く関与することが示唆されている。そこで、本研究ではバイオインターフェースの主要因子である材料表面の水和状態、初期イオン吸着及びタンパク質吸着動態のほか、材料上で培養した細胞の遺伝子及びタンパク質発現挙動等を指標として、医用材料の生体適合性を評価する新たな方法を確立することを目指す。

材料としては、チタン系金属、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（MPC）を初めとした種々の合成高分子及び表面官能基のみが異なる自己組織化膜

（SAM）を使用する。

今年度は、材料の物理化学的特性を測定するとともに、細胞挙動解析を含めた様々な生物学的試験や抜去インプラントの表面特性変化解析等を平行して実施することにより、各種指標測定のための条件設定の最適化を行うこととした。

本研究の目標が達成されることにより、医用材料の安全性を予測することが可能となると考えられる。また、新規材料の開発を迅速化できると共に、動物を使用した埋植試験を減らすことができる可能性もあることから、本研究の成果は医療機器の開発及び厚生行政に大きく貢献することが期待される。

## B. 研究方法

1. 研究方法是各分担研究報告書を参照のこと。
2. 倫理面への配慮

本研究でヒト骨髄由来間葉系幹細胞を用いているが、市販品であり倫理的問題はないと思われる。

## C. 研究結果

### 1. 実験研究の部

詳細は各分担研究報告書に記載のとおりであるが、ここでは本研究での各分担研究者の研究を材料、細胞及び観察指標の観点から概観する（表1）。分担研究は、その観察指標を大きく、材料と細胞の界面で観察される事象と、それらの相互反応の結果、細胞で観察される事象との二つに分けられる。

界面観察研究では、（メタ）アクリレート及びポリスルホベタインを用いて、低温結晶形成として観測される中間水の構造に共通

の特徴が見られた（研究協力者 田中）。また、双性イオン性ポリマーブラシ表面近傍に存在する水分子は高い運動性を有し、水和層厚が大きいいため、タンパク質との相互作用がほとんどないことが判明した（石原）。ジルコニウム表面での研究ではアルカリ処理によりカルシウムを導入し、ジルコニウムのアパタイト形成能は早期のリン酸イオンの吸着に起因していることが示唆された（伊佐間）。高分子材料への吸着タンパク質の解析は、PSF、C-PET、CTA、PS、PTFE、及び UHMWPE の 6 種を用いた。吸着アルブミン量は、吸着タンパク質／血漿タンパク質比として、0.01-0.28 倍であった。血液凝固関連の血漿タンパク質は全ての材料に吸着したが、その吸着挙動は材料毎に異なっていた。また、血液適合性評価マーカーとして、セロトニントランスポータ、コラーゲン Type XXII $\alpha$ 鎖、ビトロネクチンなどが利用できる可能性が示唆された（藪島）。また、材料表面の水和状態と人工関節の耐摩耗性との関連を確認するために、既存の摩擦試験機に改造を加えて昨年度構築した摩擦係数測定システムを用いて、今年度は PEEK の摩耗量測定を行った。その結果、PEEK は吸水量が多く、重量変化による摩耗量測定は困難である可能性が高く、むしろ形状変化による評価の方が適切であることが示唆された（迫田）。ポリマーブラシを付与した人工関節材料界面における潤滑状態をシミュレーションするためのプログラムの開発は進行中である（石川）。分子動力的シミュレーションをベースに材料近傍の水の結合状態を可視化する研究では、PMEA について特定の条件下での立体構造を図に示した（植松）。

一方、細胞で観察される事象の研究では、アルカリ処理したチタン上で培養したヒト骨髄由来間葉系幹細胞（hMSC）の遺伝子発現を、未処理チタン上で培養した細胞のそれと比較すると、Wnt シグナル伝達経路が活性化され、骨形成に関与する因子などの発現の誘導又は上昇が認められ、hMSC の骨への分化を促進する傾向が認められた（澤田）。同じ条件で、タンパク質発現に関するデータを解析したが、遺伝子発現と同じ解析時間 1 点でのデータは、遺伝子発現とは異なる傾向を示していた（加藤）。また、各種 SAM をモデル材料として実施した代謝共同阻害試験（細胞間連絡機能を評価する試験）の結果、官能基の種類に応じて細胞間連絡機能が阻害される可能性が示唆された（中岡）。

## 2. 行政研究の部

平成 17 年の薬事法改正をはじめとする国内関連規制の改正及び準拠している国際基準 ISO 10993 シリーズの改正に伴い、平成 15 年 2 月 13 日付け医薬審発第 0213001 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」及び平成 15 年 3 月 19 日付け事務連絡医療機器審査 No. 36 厚生労働省医薬局審査管理課「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料」についても、改正の必要が生じた。そこで、ISO/TC 194 国内委員会の各試験法の主査を中心とする「医療機器の生物学的安全性試験法検討会」を立ち上げ、改正作業を開始した。昨年度に実施した 4 回の会議に続き、今年度は国立医薬品食品衛生研究所でさらに下記 2 回の会議を開催し、改正案原案の作



成を終了した。

第5回：2011年6月16日（木）

午後1時～5時

第6回：2011年8月26日（金）

午後1時～5時40分

9月にPMDA医療機器審査第一部、第二部及び規格基準部並びに厚生労働省医療機器審査管理室担当者による修正、検討会による確認を経て、11月21日にパブリックコメントを電子政府（e-GOV）のHPにて公示し、約50件のコメント(重複を含む)をいただいた。平成24年2月2日厚生労働省担当者、PMDA医療機器審査担当、規格基準部及び検討会有志によるコメントへの回答の最終確認を行った。パブリックコメントでご指摘いただいた誤植等、及び回答に対応して必要な改正版の修正を行い、厚生労働省での行政手続きを経て、平成24年3月1日に医食機発0301第20号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知として発出した（H. 通知参照）。参考として、通知の表紙2ページ、別添（基本的考え方）及び別紙（試験法ガイダンス）の表紙ページを表1の後ろに添付する（松岡）。

#### D. 考察

埋植医療機器で報告される不具合は、材料との接触により細胞や周囲組織が引き起こす生体反応に起因することが多い。その不具合の原因を検討するためには、材料の表面特性やバルク的特性、材料・細胞間の相互作用を詳細に解析することが必要となる。また、現在では、生体に適用する医療機器の安全性評価に必要な非臨床試験の重要度も増して

きている。そこで、本研究では材料表面の水和状態、初期イオン吸着及びタンパク質吸着挙動等、バイオインターフェースを支配する主要因子のほか、材料上で培養した細胞の遺伝子及びタンパク質発現挙動等を詳細に検討した後、医用材料が示す生物学的特性との相関性を総合的に検証することにより、これらの因子を指標として医用材料の生体適合性をin vitroで評価する簡易スクリーニング法を開発することをめざしている。

今年度の研究で、アルカリ処理したチタン上で培養したhMSCの遺伝子発現解析の結果から、未処理のチタン上で培養したhMSCと比較して、Wntシグナル伝達経路（ $\beta$ -カテニンを介した経路と $\text{Ca}^{2+}$ シグナル経路）が活性化され、さらに骨形成に関する転写因子などの発現誘導又は上昇が認められた。またこれは、アルカリ処理によるチタン表面へのカルシウムイオン導入量やアパタイト形成能の増加に依存する可能性が示唆された。同様に、アルカリ処理したチタン上で培養したhMSCのタンパク質発現の解析も行ったが、その結果は、上記遺伝子発現解析と同じではなかった。これらの違いは、遺伝子発現とタンパク質発現にはタイムラグがあり、同じ解析時間1点だけでのデータの比較は困難であることを示唆していると考えられる。

今後は、共通材料を各指標で測定し、材料と観察指標からなるマトリックスを作成し、全体を比較できるようにしていきたいと考えている。材料表面構造、材料表面での水和状態、タンパク質吸着、細胞、遺伝子発現、タンパク質発現等の間に非常に興味深い知見が得られるものと期待される。

## E. 結論

材料表面特性と相関する各研究分担者による独自の指標（水和状態（植松、石原、田中）、イオン吸着（伊佐間）、材料吸着タンパク質（齋島、石原）、材料上で培養した細胞の遺伝子発現（澤田）及びタンパク質発現（加藤）、接触角及び細胞間連絡機能（中岡）並びに関節摺動面の材料の摩耗量（迫田）及び潤滑状態シミュレーション（石川））の研究は、それぞれの測定技術の陰性対照材料を用いた実験条件等の検討が終了した。材料調製担当者が作成する材料表面特性の異なる一連の共通試験材料の提供を受けて、各指標での結果を比較し、材料表面特性との相関性のある新規評価法を提案したいと考えている。

行政研究として、平成15年に発出された医療機器の生物学的安全性試験法の改正作業を開始し、9年ぶりに改正版を公式に発出することができた。改正を行ったが、基本的な方針である、「ISO 10993 シリーズに準拠して」医療機器の生物学的安全性評価を行うことは平成15年版と同じである。改正版では、その運用がより明確になるように説明を追加することに注意を払った。又、旧版が発出されてからの科学技術水準の向上により新たな試験法がOECD毒性試験ガイドラインに追加されたことに伴い、改正版では試験法が追加された。使用者にとっては、実施できる試験法の選択肢が増えたことになる。

上記通知の運用をより明確にするための一環として、3月9日（医器工主催）、5月9日（ISO/TC 194 国内委員会、医器工共催）及び9月4、5日（ISO/TC 194 国内委員会主催）に説明会を開催予定である。

F. 健康危険情報  
特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 1) 松岡厚子、伊佐間和郎

生体機能化されたチタン合金の生物学的安全性評価

日本金属学会分科会シンポジウム「バイオメタルサイエンス研究の最前線」予稿集 21-23 (2011)

#### 2) Kawakami, T., K. Isama, A. Matsuoka, T. Nishimura

Determination of Dimethyl Fumarate and Other Fumaric and Maleic Acid Diesters in Desiccants and Consumer Products in Japan  
J. Health Sci., 57, 236-244 (2011)

#### 3) Kawakami, T. Isama, K. Jinno, H. Matsuoka, A. Nishimura, T.

Transfer of phthalic acid diesters from a model PVC sheet to skin surface,  
Organohalogen Compounds, 73, 1116-1119(2011)

#### 4) Isama, K., Kawakami, T., Tsuchiya, T., Matsuoka, A.

Osteoblast compatibility of calcium-incorporated Ti-Zr-Nb alloys  
Proceedings of 24<sup>th</sup> European Conference on Biomaterials, 57- 61(2011)

#### 5) Matsuoka, A., Kodama, Y., Yoshida, M., Isama, K., Inoue, K., Kawakami, T., Nishikawa, A.

Toxicological studies of nano-suspensions of silica, silver and zinc oxide

- Proceedings of 24<sup>th</sup> European Conference on Biomaterials, 87- 90 (2011)
- 6) 迫田秀行, 松岡厚子: 打ち抜き試験による超高分子量ポリエチレンの機械特性評価  
臨床バイオメカニクス, 32, 277-281 (2011)
2. 学会発表
- 1) 栗原千明、山下香織、長幡友実、園田麻里子、曾根保子、西川可穂子、福原潔、松岡厚子、藤原葉子  
Resveratrol と Stilbene 誘導体がマウス由来 C2C12 細胞に及ぼす影響  
第 65 回日本栄養・食糧学会大会 (2011. 5 東京)
- 2) Matsuoka, A. Kodama, Y. Yoshida, M. Isama, K. Inoue, K. Kawakami, T. Nishikawa, A.  
In Vitro and Vivo Toxicity Studies of Nanomaterials Used in Household Products  
ICAMT 2011 (2011.6 シンガポール)
- 3) 河上強志、伊佐間和郎、松岡厚子、西村哲治  
家庭用品および乾燥剤中に含有されるフマル酸ジメチルおよび関連化合物の分析  
第 20 回環境化学討論会 (2011.6 熊本)
- 4) 矢野一男、上野紘機、上崎勇一、古田光子、山本芳子、中村晃忠、土屋利江、松岡厚子  
新しく発行された医療機器臨床試験の国際規格 (ISO 14155 : 2011) と ISO/TC 194/WG 4 活動報告  
第 1 回レギュラトリーサイエンス学会 (2011.9 東京)
- 5) Matsuoka A., Kodama Y., Yoshida M., Isama K., Inoue K., Kawakami T., Nishikawa A.  
Toxicological Studies of Nano-suspensions of silica, silver and zinc oxide  
24<sup>th</sup> European Conference on Biomaterials (2011.9 Dublin)
- 6) K. Isama, T. Kawakami, T. Tsuchiya, A. Matsuoka: Osteoblast compatibility of calcium-incorporated Ti-Zr-Nb alloys  
24<sup>th</sup> European Conference on Biomaterials (2011.9, Dublin)
- 7) K. Isama, T. Kawakami, A. Matsuoka: Adsorption behavior of ions on calcium-incorporated titanium in simulated body fluid  
The 3rd Asian Biomaterials Congress (2011.9 Busan)
- 8) 伊佐間和郎、河上強志、松岡厚子: カルシウム導入したチタンのイオン吸着挙動とアパタイト形成能  
日本金属学会 2011 年秋期講演大会 (2011.11 宜野湾市)
- 9) 松岡厚子: 医療機器の生物学的安全性試験法 (平成 15 年発出) の見直しについて  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 10) 齋島由二, 長谷川千恵, 田中 賢, 長部真博, 上野良之, 棚橋一裕, 松岡厚子: 高分子材料表面への蛋白質吸着挙動と血液適合性の相関性評価に関する研究  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 11) 齋島由二, 長谷川千恵, 柚場俊康, 田上昭人, 松岡厚子. 赤血球寿命に及ぼす可塑剤の影響評価に関する研究  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会

- (2011.11 京都)
- 12) 伊佐間和郎、河上強志、松岡厚子：カルシウム導入したチタンの擬似体液浸漬によるイオン吸着挙動  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都市)
- 13) 中岡竜介、松岡厚子：種々の官能基表面調製とその細胞挙動への影響について (4)：初期細胞接着と細胞間連絡機能変化に関する検討  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 14) 澤田留美、松岡厚子「チタンディスク上で培養したヒト間葉系幹細胞の遺伝子発現に関する網羅的解析」  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 15) 加藤玲子、齋島由二、長谷川千恵、松岡厚子：異なる表面処理を施したチタンプレート上で培養したヒト間葉系幹細胞のタンパク質発現解析  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 16) 迫田秀行、松岡厚子：ガンマ線架橋超高分子量ポリエチレンの酸化劣化に対する熱処理の影響  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 17) 植松美幸、中野達也、瀬川勝智、齋島由二、中岡竜介、松岡厚子：分子動学的シミュレーションを用いた医用高分子材料表面の水和状態の可視化  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 18) 宮島敦子、加藤玲子、酒井恵子、松岡厚子：チタン系金属、合成高分子等の医用材料上で培養した CHL 細胞の細胞毒性および遺伝毒性  
第 33 回日本バイオマテリアル学会大会 (2011.11 京都)
- 19) 酒井 恵子、宮島 敦子、加藤 玲子、岡田 恵里、尾崎 正康、松岡 厚子：ナノ材料の安全性評価における A549 細胞と CHL 細胞の感受性の比較  
日本環境変異原学会第 40 回大会(2011.11 東京)
- 20) 藤原葉子、長幡友実、栗原千明、長谷部未来、日野温子、園田麻里子、福原潔、澤田留美、松岡厚子  
レスベラトロール誘導体の生理作用とそのメカニズム  
第5回日本ポリフェノール学会 (2011.11 東京)
- 21) 河上強志、伊佐間和郎、中嶋晴信、吉田仁、大嶋智子、大野浩之、上村仁、塩田寛子、菊地洋子、松岡厚子、西村哲治  
有害物質含有家庭用品規制法における有機錫化合物試験法改定に向けたラウンドロビンテスト  
第 48 回全国衛生化学技術協議会年会 (2011.11 長野)
- 22) Sonoda, M. Kurihara, C. Hasebe, M. Yamashita, K. Nagahata, T. Fukuhara, K. Matsuoka, A. Fujiwara, Y.  
Resveratrol and its stilbene analogue improve glucose tolerance  
ICoFF (2011. 11 台北・台湾)
- 23) 迫田秀行、松岡厚子：デラミネーションの再現と内部クラック観察  
第 38 回 日本臨床バイオメカニクス学会、

- (2011.11 神戸)
- 24) 迫田秀行, 京本政之, 井上祐貴, 石原一彦, 松岡厚子: 人工関節摺動面用材料の形状変化による摩耗量評価の可能性の検討  
第 38 回 日本臨床バイオメカニクス学会, (2011.11 神戸)
- 25) 迫田秀行, 松岡厚子: 人工関節用超高分子量ポリエチレンのデラミネーション破壊特性評価  
第 42 回 日本人工関節学会, 42 (2012.2 宜野湾市)
- 26) Miyajima A., Kato R., Sakai K., Okada E., Matsuoka A.: Cytotoxicity studies in A549 cells cultured on 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers  
Cytotoxicity studies in A549 cells cultured on 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers  
The 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (2012.3 San Francisco)
- 27) R. Sawada, Y. Haishima, K. Isama, A. Matsuoka: Effect of surface-modified titanium by chemical treatment on the gene expression profile in osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells  
The 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (2012.3 San Francisco)
- 28) Reiko Kato, Yuji Haishima, Chie Hasegawa, Atsuko Matsuoka: Comparison of protein expression profiles in human mesenchymal stem cells cultured on surface-modified titanium with chemical treatments  
The 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (2012.3 San Francisco)
- 29) 藪島由二, 河上強志, 伊佐間和郎, 福井千恵, 柚場俊康, 田上昭人, 松岡厚子: PVC 製血液バッグの安全性及び有効性の再評価に関する研究  
日本薬学会第 132 年会 (2012.3 札幌)
- 30) 宮島敦子, 酒井恵子, 河上強志, 加藤玲子, 松岡厚子, 尾崎正康, 宇佐美誠, 伊佐間和郎: A549 細胞を用いたナノマテリアルの in vitro 生体影響評価系の検討  
日本薬学会第 132 年会 (2012.3 札幌)
- H. 通知  
平成 24 年 3 月 1 日付け薬食機発 0301 第 20 号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知「医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」
- I. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。
- J. 後記  
本研究報告書を取り纏め中に、平成 23 年 3 月 11 日に発生した関東大震災の 1 周年を迎えた。東北の被災地にはまだ瓦礫が残ったままであり、地震のあとの福島原発事故の収束に向けた作業は現在も続いている。  
本研究は、当初 3 年計画であったが、平成 24 年度新規に立ち上がる厚生労働科研へ引き継がれることになり、本年度で一旦終了する。

表1 分担研究で使用した材料、細胞及び観察指標の一覧（平成23年度）

研究分担者	材料	細胞又は 擬似体液等	観察指標
藪島	PSF, C-PET, CTA, PS PTFE, UHMWPE	ヘパリン加ヒト血漿	ゼータ電位、接触角 タンパク質吸着
中岡	自己組織化膜	V79	細胞間連絡機能、 接触角
伊佐間	ジルコニウム (アルカリ処理を含む)	擬似体液	イオン吸着
澤田	チタン (アルカリ処理を含む)	hMSC	遺伝子発現
加藤	チタン (アルカリ処理を含む)	hMSC	タンパク質発現
迫田	UHMWPE、PEEK、PMPC	潤滑液 (牛血清水溶液)	摩擦係数
植松	PMEA (仮想)	水(仮想)	水和状態 (仮想)
石川	ポリマーブラシ(仮想)	関節液(仮想)	潤滑状態(仮想)
石原	ポリマーブラシ表面	水、タンパク質固 定化カンチレバー	水和状態、 タンパク質吸着
田中	(メタ)アクリレート、ポリス ルホベタインメタクリレート	水	中間水(低温結晶形成)

hMSC: ヒト間葉系幹細胞、UHMWPE: 超高分子量ポリエチレン

薬食機発0301第20号  
平成24年3月1日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬食品局  
審査管理課医療機器審査管理室長

医療機器の製造販売承認申請等に必要  
な生物学的安全性評価の基本的考え方について

医療機器の製造販売承認申請等に際して添付すべき資料のうち、生物学的安全性評価に関する資料の取扱いについては、「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」（平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号厚生労働省医薬局審査管理課長通知）及び「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について」（平成15年3月19日付け医療機器審査No.36厚生労働省医薬局審査管理課事務連絡）に基づき取り扱ってきたところです。今般、医療機器の生物学的安全性評価の基本的考え方について別紙のとおり定めしましたので、下記に御留意の上、貴管内関係団体、関係業者等への周知方お願いします。

また、これに伴い、「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」（平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号厚生労働省医薬局審査管理課長通知）及び「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について」（平成15年3月19日付け医療機器審査No.36厚生労働省医薬局審査管理課事務連絡）は廃止します。

なお、本通知の写しを独立行政法人医薬品医療機器総合機構理事長、日本医療機器産業連合会会長、米国医療機器・IVD工業会会長、欧州ビジネス協会医療機器委員会委員長及び薬事法登録認証機関協議会代表幹事宛て送付することを申し添えます。

## 記

1. 本通知は、医療機器の製造販売承認申請、認証申請及び届出（一部変更承認申請、一部変更認証申請及び届出事項変更届出を含む。以下「製造販売承認申請等」という。）に際しての生物学的安全性評価の基本的考え方を示したものであること。
2. 本通知は現時点において妥当とされる科学的知見に基づき作成されたものであり、科学の進歩等を反映した合理的根拠に基づくものであるならば、本通知によらずに試験を行い、その結果を申請資料等として用いても差し支えないこと。また、既に実施された試験等について、合理的根拠をもって妥当性を明らかにした上であれば、申請資料等として用いても差し支えないこと。
3. 平成25年3月31日までにを行う製造販売承認申請等に係る生物学的安全性評価に関する資料については、なお従前の例によることができること。  
また、既に実施された試験、現在実施中の試験、医療機器の製造販売承認申請等以外の目的で実施された試験又は外国での医療機器の承認申請その他の目的で実施された試験であって、本基本的考え方の意図する評価項目を満たし、得られた結果が品質、有効性評価又は、臨床上の安全性評価に足るものであると判断される試験については、個々の試験方法が本基本的考え方に示された試験方法に合致しないものであっても、判断根拠を明らかにした上であれば、原則、本基本的考え方に基づく試験に代えて差し支えないこと。



## 医療機器の生物学的安全性評価の基本的考え方

### 1. 目的

本文書は、医療機器の市販前の安全性評価の一環として、生物学的有害作用（毒性ハザード）のリスク評価を行うための生物学的安全性評価に関する基本的考え方を示すものである。

### 2. 定義

本文書において用いられる用語の定義は以下によるものとする。

#### 1) 原材料

医療機器の材料又は医療機器の製造工程中で用いられる材料をいい、合成又は天然高分子化合物、金属、合金、セラミックス、その他の化学物質などをいう。

#### 2) 最終製品

出荷可能な医療機器をいい、滅菌品については滅菌後の製品をいう。ただし、出荷後、用時加工・調製され使用されるものにあつては、実際に使用される状態の製品をいう。

#### 3) ハザード

人の健康に不利益な影響を及ぼす原因となりうる遺伝毒性、感作性、慢性全身毒性などの要素をいう。

#### 4) リスク

ハザードにより引き起こされる人の健康に不利益な影響の発生確率及びその影響の程度をいう。

### 3. 公的規格の活用

医療機器の生物学的安全性評価は、原則として、JIS T 0993-1 あるいは国際規格である ISO 10993「医療機器の生物学的評価」シリーズに準拠して行うこととする。すなわち、JIS T 0993-1 及び ISO 10993-1「リスクマネジメントプロセスにおける評価及び試験」に準拠して、個々の医療機器の接触部位と接触期間に応じて必要な評価項目を選定し、更に各評価項目は ISO 10993 シリーズの各試験法ガイダンスを参考として適切な試験法を選定し安全性評価を行うこととする。各試験法については、医療機器の安全性評価を適切に行える場合にあつては、他の公的規格に準拠した試験法による評価も受け入れることができる。また、ISO 10993 シリーズ中の各試験法ガイダンスでは、多くの場合、評価項目ごとに複数の試験法が列記されているが、個々の医療機器についてどの試験法をどのように適用することが適切であるか、また試験結果をそれぞれの医療機器の評価にどのように用いるべきかは明確に規定されていない。このため、試験実施にあつては、4. 以下を踏まえて適切な試験法を選択することが必要である。本文書及び別添の「医療機器の生物学的安全性試験法ガイダンス」では、生物学的安全性評価で留意すべき点を追記している。

なお、公的規格及び基準は科学技術の進展に伴って逐次改訂されるものであるため、試験を実施する時点における最新の規格・基準を考慮し、適切な試験法を選択する必要がある。

## 医療機器の生物学的安全性試験法ガイダンス

### 目次

	ページ
第1部 細胞毒性試験	8
第2部 感作性試験	20
第3部 遺伝毒性試験	35
第4部 埋植試験	41
第5部 刺激性試験	54
第6部 全身毒性試験	67
第7部 発熱性物質試験	75
第8部 血液適合性試験	87
付録	95

## Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

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  
「材料／細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究」

分担研究課題名  
プロテオミクス解析を利用した医用材料の生体適合性・機能評価に関する研究

研究代表者	松岡 厚子	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
研究分担者	薮島 由二	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
研究協力者	福井 千恵	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
	田中 賢	山形大学大学院理工学研究科
	棚橋 一裕	東レ先端材料研究所
	長部 真博	東レ先端材料研究所
	上野 良之	東レ先端材料研究所

研究要旨

平成 23 年度の本研究では、高分子材料の血液適合性を蛋白質吸着特性から予測する評価系の確立を目指し、6 種類の対照材料 (PSF、C-PET、CTA、PS、PTFE、UHMWPE) の表面に吸着する血漿蛋白質の網羅的プロテオミクス解析を行った。

各材料表面に吸着したアルブミン量は、吸着蛋白質 (AP) / 血漿蛋白質 (PP) 比として 0.01-0.28 倍であった。血液凝固に関与する一連の血漿蛋白質は全ての材料表面に吸着したが、その吸着挙動は材料毎に異なっていた (表 2)。セロトニントランスポータ、コラーゲン Type XXII  $\alpha$  鎖、ビトロネクチン、インテグリン  $\alpha$ 1、補体補助因子 D、リポ蛋白質 (APOE)、ホスホリパーゼ D<sub>5</sub>、IL-7 等は、ほぼ全ての材料に AP/PP 比として 2 又は 5 倍を超えて顕著に吸着し、材料上で濃縮されることが確認された。C3 補体の AP/PP 比は 0.29-1.23 であったが、C1 補体は CTA 及び PSF、C8 補体は CTA、PTFE 及び PSF に AP/PP 比 = 2 を超えて吸着した。免疫グロブリンは PTFE、PS 及び PSF、リポ蛋白質は PSF 及び PTFE に吸着し易い傾向が認められた。その他、セロトニン受容体は PS、血液凝固因子は PSF 及び PTFE、フィブロンクチン及び VWF は PTFE、マンナン結合因子は CTA に AP/PP 比 = 2 を超えて吸着した。一方、 $\alpha$ 1-アンチトリプシン、トロンボスポンジン (CTA を除く)、キニノゲン、カリクレイン (PSF を除く)、血小板第 4 因子及び抗凝血作用蛋白質群には、AP/PP 比として 2 倍を超える顕著な吸着が認められなかった。

今後、組成比の異なる PMEA/PHEMA ランダム共重合体表面を作成した後、中間水組成と蛋白質吸着挙動の相関性について検討すると共に、対照材料の結果と比較検討することにより血液適合性評価マーカーの特定と絶対定量を行う。

A. 研究目的

医療機器及び医用材料の生体適合性は、種々の溶出物や残留物質等の毒性、微生物汚染に由来する感染因子のほか、材料表面の物理化学的特性に大きく影響される。これは、医用材料が細胞や組織のよ

うな生きた生体システムと接触し、その界面 (バイオインターフェース) で起こる分子間相互作用を介して機能を発揮することに由来する。医用材料を生体内に埋植すると、材料表面に水やイオンが速やかに吸着し、次いで生体蛋白質の吸着