

## 分担研究報告書

平成 24 年度厚生科学研究費補助金（地球規模保健課題推進）研究事業  
国際標準化機構（ISO）及び国際電気標準会議（IEC）における医療機器の各種国際規格の  
策定に関する研究（H23-地球規模-指定-003）

### 分担研究課題名

ISO/TC 194/WG 9 ラウンドロビンテスト支援研究

研究分担者	松岡 厚子	国立医薬品食品衛生研究所	医療機器部長
研究協力者	新藤 智子	財団法人 食品薬品安全センター	秦野研究所
	坂口 圭介	テルモ株式会社	研究開発本部
	谷川 隆洋	テルモ株式会社	研究開発本部
	犬飼 香織	テルモ株式会社	研究開発本部
	竹ノ内美香	テルモ株式会社	研究開発本部

### 研究要旨

ISO/TC 194/WG 9(医療機器の生物学的評価 - 血液適合性 WG)は、担当文書 ISO 10993-4:2002 及び Amd 1:2006 の改正に向け、溶血性試験に関する多施設国際共同検証試験（ラウンドロビンテスト）の実施を計画した。今年度、本研究班から参加の 2 機関が、WG 9 Convenor Dr. Michael Wolf のとりまとめる溶血性試験プロトコルの最終化作業に参画し、サンプル選定と文書校正を完了させた（文書発行 2012 年 11 月 19 日）。プロトコルは、医療機器の溶血性試験で国際的に広く用いられている ASTM 法、NIH 法、MHLW 法（薬食機発 0301 第 20 号<sup>1)</sup>）の 3 法で構成されている。またラウンドロビンテストの実施は、第一段階の Pilot Run と第二段階の Actual に分けて行うこととなった。上記 2 機関により今年度末までに Pilot Run の第一回目の試験が実施される運びとなっている。

また本研究班で試験精度管理の目的で開発中の陽性対照材料（Genapol X-080 含有 PVC シート）を、前述のラウンドロビンテストのプロトコルにて性能評価を実施し、ラウンドロビンテスト用サンプルの 1 つとして提供することを目的として、その基本性能を詳細に評価した。Genapol X-080 含有量依存的に溶血性が認められ、精度管理目的の陽性対照材料の候補として、その基本性能が確認された。

#### A. 研究目的

血液に接触する医療機器には安全性上の不具合を生じないように、ISO 10993-4 で規定される血液適合性評価が求められているが、具体的で標準化された試験法が明記されていない点が大きな課題となっている。ISO/TC 194：医療機器の生物学的評価 技術委員会では、WG 9 が主体と

なって発行文書 ISO 10993-4（2002 年に発行された本体及び 2006 年に発行された Amendment で構成）の改正作業が始まっている。血液適合性評価の中に赤血球に及ぼす影響を評価する試験法として確立された「溶血性試験」がある。国際的には、米国で規格化された ASTM 法、NIH 法、及び日本の MHLW 法（薬食機発 0301 第 20 号

1)が国際的に広く用いられている(表1)。WG 9ではISO 10993-4への記載のため、この3法を比較検討するためのラウンドロビンテストの実施が決まった(図1)。ラウンドロビンテスト参加者は日中米欧の12試験機関で構成されている(表2)。

ラウンドロビンテストのプロトコルの最終化と試験検体の決定は、参加する試験機関の意見の一致に時間を要し難航していたが、電話会議を重ね、2012年11月19日完了した。またラウンドロビンテストの実施は、第一段階のPilot Runと第二段階のActualに分けて行うこととなった(図1)。Pilot Runの試験概要を図2に示す。陰性対照材料(非溶血)としてポリエチレンを用いるほか、さまざまな溶血程度を有するゴム材料を5種類試験して、第二段階(Actual)のラウンドロビンテストで用いる検体を選択する目的も含まれている。

## B. 研究方法

### 1. 試験材料

ラウンドロビンテストの試験検体は図2に示す6種類(Polyethylene, Nitrile glove, Latex glove #12, EPDM Rubber #3, EPM Rubber #4, Buna rubber(Aero Rubber Co.製))が提供されることになっている。さらに、本研究では試験精度管理の目的で開発中の陽性対照材料(Genapol X-080含有PVCシート)を用い、溶血性能を評価した。各試験法のインキュベーション時間は、プロトコルに従い、ASTM法(直接接触及び抽出液法):3時間、NIH法(直接接触法):1時間、MHLW法(抽出液法):4時間で実施した。

### 2. 実験方法

試験方法は2012年11月19日付ラウンドロビンテストのテストプロトコルに従った。

ただし、Genapol X-080含有PVCシートについてはウサギ血液での実施とし、間接接触法における抽出条件は表面積あたり $6\text{ cm}^2/\text{mL}$ の抽出溶媒量、 $121 \pm 2$ 、 $1 \pm 0.1$ 時間とした。

### 3. 倫理面への配慮

動物血液の採取については、所属機関(財団法人ヒューマンサイエンス振興財団の動物実験実施施設認証認定番号12-005(秦野研)及び12-030(テルモ))の規定する動物実験指針に従い、動物に対する苦痛が最小となるよう務めた。又、動物実験倫理委員会の承認を得た(承認番号:1120331A(秦野研)及び120163(テルモ))。

## C. 研究結果

陽性対照材料の溶血性試験結果を図3及び表3-6に示す。Genapol X-080 10 phrシートはすべての試験法で溶血率がほぼ100%の高い溶血性を示した。またGenapol X-080 0.1 phr及び0.01 phrシートはすべての試験法で陰性であった。一方、Genapol X-080 1 phrシートはASTM直接接触法で20%程度の溶血率を示したが、その他の試験では陰性であった。

し、精度管理目的の陽性対照材料の候補としての基本性能が確認され、ラウンドロビンテスト用サンプルになりうると思われた。また本材料における溶血性の検出は、ASTM直接接触法が最も感度良く確認できた。

## D. 考察

赤血球の溶血現象には、(1)浸透圧変化、(2)レオロジー作用、(3)生化学的要因の3つの作用が関与しており、医療機器の臨床使用においては、単独あるいはこれらが複合的に作用して不具合としての溶血が生じると考えられる。ラウンドロビンテストで取り上げられた溶血性試験は、医用材料の有する潜在的な毒性として主に(3)の作用による赤血球膜が破壊される現象の有無とその程度を確認する試験法である。(3)の作用の中には、界面活性作用による膜破壊や高/低 pH 等による膜たんぱく質の変性作用などが例として挙げられる。

本研究班の開発した陽性対照材料は、非イオン界面活性剤である Genapol X-080 が抽出液やインキュベーション中の試験液に溶出することで、赤血球膜のリン脂質 2 分子膜を破壊する作用を有することが溶血性の機序と考えられる。研究結果から、本陽性対照材料における溶血性の閾値は、ASTM 直接法で 0.1 phr と 1 phr の間の用量、その他の試験では 1 phr と 10 phr の間の用量に、それぞれあると考えられる。材料中の Genapol X-080 量の精密なチューニングはこれからの作業となるが、本実験結果から、本材料のコンセプトは証明され、溶血試験法陽性対照材料としての有用性が確認できたと判断できる。

#### E. 結論

ISO/TC 194/WG 9 (血液適合性) で企画された RRT への、国内 2 機関の参加への支援を継続した。平成 25 年 3 月中旬に試験材料を配布するとの情報が、オーガナイザーよりよせられたが、当該研究班の報告には間に合わないため、本研究班で

試験精度管理の目的で開発中の陽性対照材料を用いて、ウサギ血でその基本性能を評価した。その結果 Genapol X-080 含有量依存的に溶血性が認められ、陽性対照材料候補としての基本性能が確認できた。

得られたデータは、平成 25 年 4 月開催予定の ISO/TC 194/WG 9 パヴィア会議で報告する。

F. 研究発表  
なし。

#### G. 参考

1) 平成 24 年 3 月 1 日付け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 薬食機発 0301 第 20 号「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」