

## 〈その他、事項〉

1. 生物学的安全性評価項目について、人工気管は表面接触または体内植込み機器のいずれに該当するか。

### (回答)

構成成分にコラーゲンを含んでおり体内に吸収されるので、体内植込み機器として考える。

2. ペルナック（製造元：グンゼ、販売元：スミス・アンド・ネフュー）の資料では、「本品約1gを約2mm四方に細切し、100倍量（溶血性試験の場合は200倍量）の生理食塩水を加え、…」とあり、医療機器ガイドラインと比較すると10倍多い抽出溶媒を加え、抽出を行っている。今回実施する試験についても同じような形で実施できるか。

### (回答)

ペルナックの安全性試験で、このような条件で実施された背景は不明であるが（おそらく吸収性を考慮しての実施）、医療機器ガイドラインで定められている試験試料／抽出溶媒比より薄い抽出液が作製されるため、適切なリスク評価ができない恐れがある。試験は医療機器ガイドラインで定められている試験試料／抽出溶媒比で試験を実施すること。

3. 人工気管はブタ由来のコラーゲンを含むが、医療機器ガイドラインで定められている121℃、70℃等の抽出温度では、変性する恐れがある。抽出温度に関してアドバイスを頂きたい。

### (回答)

変性してしまうと最終製品と異なるものについて試験を行うことになるので、変性しない最高温度で実施することが望ましい。医療機器ガイドラインでは抽出温度を121℃、70℃、50℃、37℃と決められているが、物理的・化学的に変化がない条件で行うこと。

4. 埋植試験について

被験物質に吸収性のあるものは、その成分が吸収される期間の埋植試験が必要。

また、長期の埋植については、実際に移植することで機能性を確認する試験で安全性も合わせて確認することも可能。実際の移植手技、長期間の移植で安全を確認する必要がある。試験もGLPではなく、非GLPでも実施可。ただし、記録はしっかりと残すこと。

期間についてはガイドライン上の期間でよい。材料の変性の経過を見る必要がある。

人（60kg）に10g移植するなら、動物もその比率に安全域を考慮した分を植え込む。

5. ブタ由来コラーゲンについて

人工気管はブタ由来コラーゲンを含むため、申請までに以下を参考にする対応することが必要となると助言を頂いた。

- ・「生物由来原料基準」〈厚生労働省告示第210号〉
- ・「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」〈医薬発第1314号〉

6. 今後について

今後のステップとして、医療機器開発前相談と医療機器戦略相談の2つがある。医療機器開発前相談は申請に向けての試験の種類の相談を、医療機器戦略相談は試験計画書を準備すれば内容を確認して頂ける。

## 〈事前面談後〉

事前面談を受け、今後実施すべきことを確認した。

- 人工気管に使用されている各原材料については、購入元に入手できる情報（製品の成績書、安全性データ、等）を確認する。全て入手できる場合は、埋植試験を除くその他の試験は実施しない方向とする。
- 各原材料の安全性に関する情報を入手できない場合は、最終製品と同じ比率としたものを使用し（シート状でも可）、生物学的安全性試験を実施する。埋植試験については安全性に関する情報の有無に関わらず実施するため、ウサギ埋植試験の試験計画書案または骨子を作成する（新日本科学担当）。埋植期間は、消失（体内吸収）を考慮し、ガイドラインに規定ある期間（1及び4週）に加え、8週（予定）とする。

図1 生物学的安全性試験のロードマップ

試験項目	1月	3月	5月	7月	9月
● 抽出条件検討試験	←	→			
● 細胞毒性試験	←	→			
● 復帰突然変異試験		←	→		
● 染色体異常試験		←	→		
● 感作性試験		←	→		
● 皮内反応試験		←	→		
● 急性毒性試験		←	→		
● 埋植予備検討試験		←	→		
● 埋植試験				←	→
● 亜慢性毒性試験			←	→	

## 人工気管の非臨床試験について

医療機器の製造承認を受けようとする者等が行う医療機器の承認申請等で添付または提出する資料のうち医療機器の生物学的安全性試験に関する非臨床試験については、医療機器の非臨床試験に関する遵守事項を定めた「医療機器の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（厚生労働省令第37号、平成17年3月23日、一部改正 厚生労働省令第115号 平成20年6月13日）（以下、「GLP省令」）に従って、試験を実施する必要がある。

また、医療機器の安全性を確認するために必要な試験の種類については、平成24年3月1日に通知された「医療機器の製造販売承認申請等に必要生物学的安全性評価の基本的考え方について」（薬食機発0301第20号）（以下、医療機器ガイドライン）に準じて、試験を選択する。

この医療機器ガイドラインでは、医療機器の製造販売承認申請、認証申請及び届出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り、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したものである。

### 〈評価項目の選択について〉

医療機器の生物学的安全性について評価すべき試験の選択については、次の頁に示した医療機器ガイドライン中の「表1 考慮すべき評価項目」に示され、医療機器の接触部位及び接触期間による分類に応じて試験が選択され、評価を行う必要がある。

表1 考慮すべき評価項目

下表は生物学的安全性評価項目選択のための原則である。

本文記載のとおり、表1は実施すべき試験項目として網羅したものではなく、適切なりスク評価を行う際に考慮すべき項目として示したものである。また、特定の医療機器では、この表に示される試験の組み合わせに加えて、慢性毒性、発がん性、生体内分解性、トキシコキネティクス、免疫毒性、生殖/発生毒性、その他臓器特異的毒性についても評価が必要となる場合がある。

医療機器の分類	接触期間（累積）	生物学的安全性評価項目										
		細胞毒性	感受性	刺激性/皮内反応	急性全身毒性	亜急性全身毒性	遺伝毒性	発熱性	埋植	血液適合性		
接触部位	A：一時的接触 (24時間以内) B：短・中期的接触 (24時間を超え30日以内) C：長期的接触 (30日を超える)											
非接触機器												
表面接触機器	皮膚	A	○	○	○							
		B	○	○	○							
		C	○	○	○							
	粘膜	A	○	○	○							
		B	○	○	○							
		C	○	○	○		○	○				
	損傷表面	A	○	○	○							
		B	○	○	○							
		C	○	○	○		○	○				
体内と体外とを連結する機器	血液流路間接的	A	○	○	○	○			○		○	
		B	○	○	○	○			○		○	
		C	○	○		○	○	○	○		○	
	組織/骨/歯質	A	○	○	○							
		B	○	○	○	○	○	○			○	
		C	○	○	○	○	○	○			○	
	循環血液	A	○	○	○	○			○		○	
		B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
体内植込み機器	組織/骨	A	○	○	○							
		B	○	○	○	○	○	○			○	
		C	○	○	○	○	○	○			○	
	血液	A	○	○	○	○	○			○	○	○
		B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

本表の評価項目には、JIS T 0993-1の付属書A生物学的評価試験の表A.1の項目に、発熱性を加えている。

発熱性については、ISOでは全身毒性（急性）の評価の一部としているが、評価項目として示すことがリスク評価を行う上で有用であると判断し、別項目として記載した。

この医療機器ガイドラインに準じると、今回の人工気管は、分類として「体内植込み機器」に、接触期間として「組織／長期的接触C（30日を超える）」に該当する。考慮すべき評価項目としては、生物学的安全性評価項目の細胞毒性、感作性、刺激性／皮内反応、急性全身毒性、亜急性全身毒性、遺伝毒性、埋植の7種類となる。また、人工気管の非臨床試験に関して2013年11月6日にPMDAと事前面談を行い、その助言を踏まえ以下の試験を実施することにした。なお、事前面談で人工気管を構成する各原材料の比率が同じであれば最終製品と異なる形状で試験を実施することに問題ないことを確認し、非臨床試験用に作製した人工気管を用いて、一連の医療機器の生物学的安全性試験を実施する。

各試験の試験デザインについては、次の頁以降に示す。

なお、人工気管は移植術後、終生使用される医療機器であることを考慮すると、亜急性試験ではなく亜慢性全身毒性試験もしくは慢性全身毒性試験が選択される。

〈平成24年度に実施済〉

- 抽出条件検討予備試験\*（非GLP適用）

\*：平成25年度に実施する抽出条件検討試験の予備検討試験

〈平成25年度に実施〉

- 抽出条件検討試験\*\*（非GLP適用）

\*\*：平成26年度に実施する感作性、皮内反応、急性毒性及び遺伝毒性試験（Amesおよび染色体異常試験）の抽出条件等に関する検討試験

- 細胞毒性試験（GLP適用）
- 埋植予備検討試験（皮下）\*\*\*（非GLP適用）

〈平成26年度に実施予定〉

- 埋植予備検討試験（皮下）\*\*\*（非GLP適用）  
\*\*\*：平成26年度に実施予定の埋植試験（皮下）のための予備検討試験
- 感作性試験（GLP適用）
- 皮内反応試験（GLP適用）
- 急性全身毒性試験（GLP適用）
- 遺伝毒性試験（Amesおよび染色体異常試験）（GLP適用）
- 埋植試験（皮下）（GLP適用）

なお、慢性全身毒性試験については、PMDAとの事前相談時に、別途実施予定のイヌを用いた機能性を確認する試験（非GLP）の中で実施することで問題ないことを確認し、この機能性を確認する試験で合わせて評価する予定である。

## 【抽出条件検討試験】

### 〈試験目的〉

医薬品または化学物質等の安全性試験を行う際には、液体の場合はそのまま使用（または希釈して）、粉末の場合は適切な溶媒に溶解（または懸濁）させた溶液を投与（処置）するが、医療機器の場合には、そのままでは投与（処置）することが困難な場合が多く、基本的には適切な溶媒で溶出させた物質を用いて、安全性を評価することが医療機器ガイドラインに記載されている。

抽出検討試験では、抽出液を用いて実施される感作性試験、遺伝毒性試験、皮内反応試験および急性毒性試験について、最適な抽出条件を設定するために試験が行われる。

### 〈試験内容〉

#### 1) 皮膚感作性試験および遺伝毒性試験における抽出条件の検討

検討用有機溶媒としてメタノールおよびアセトンを使用する。

細切した試験試料に有機溶媒を加え、室温で遺伝毒性試験では24～25時間、感作性試験では72～73時間攪拌して抽出を行う。抽出終了後、ロータリーバキュームエバポレーター等を用いて可及的に溶媒を留去して抽出物を得る。抽出中、試験試料が溶解したり、原形をとどめないほど変形、変質するような場合は、該当溶媒は不適と判断する。

抽出後、残留物（抽出物）の重量を測定し、抽出に使用した医療機器の重量と抽出物重量から抽出率（ $w/w\%$ ）を算出する。感作性試験では、メタノールおよびアセトンのうち抽出率の最も高い溶媒を抽出溶媒とする。遺伝毒性試験では、メタノールおよびアセトンのうち、抽出率の最も高い溶媒を抽出溶媒とするが、いずれにおいても $0.5w/w\%$ 以上の抽出率が得られなかった場合にはメタノールおよびアセトンは使用せず、復帰突然変異試験ではdimethylsulfoxide（DMSO）を、染色体異常試験では試験で使用する培養液を抽出溶媒とする。また、感作性試験では複数の媒体〔注射用水、ゴマ油、DMSOおよびアセトン等〕を用いて、抽出物の溶解性（または懸濁）についても検討する。

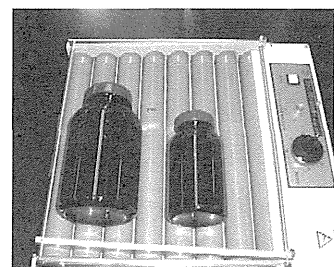


写真 スウィングロールミキサーを用いた抽出操作

#### 2) 皮内反応試験および急性毒性試験における抽出条件の検討

検討用抽出溶媒として生理食塩液と植物油（ゴマ油）を使用する。細切した試験試料に抽出溶媒を加え、以下に示されている条件（表1 抽出温度および時間）に従って、最適な条件（被験物質が耐えられる最高温度条件）を選択する。なお、試験委託者より提供された情報により、原材料にブタ由来コラーゲンを使用しているため $45^{\circ}\text{C}$ 以上の抽出を行うとコラーゲンが変性される可能性があり、 $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ （ $72 \pm 2$ 時間）の抽出条件で確認する。

表1 抽出温度および時間

条件	抽出温度	時間	使用機器
1	$37 \pm 1^{\circ}\text{C}$	$72 \pm 2$ 時間	恒温器

# 抽出条件検討試験実施概要

本試験では、人工気管の生物学的安全性試験を実施するにあたって、遺伝毒性試験用の抽出溶媒の設定、感作性試験用の抽出溶媒及び媒体の設定、皮内反応試験及び急性全身毒性試験用の抽出条件の設定のため、以下の検討を実施した。

## 1) 遺伝毒性試験用抽出条件の検討

被験物質に、抽出溶媒2種（メタノール及びアセトン）をそれぞれ加え、室温（実測値19.5～21.5℃）で24時間40分抽出を行った。

いずれの抽出溶媒でも、被験物質の溶解、原形をとどめないほどの変形及び変質はみられず、抽出率は、メタノールが0.46w/w%、アセトンが0.43w/w%であった。いずれの抽出溶媒も0.5w/w%以上の抽出率で抽出物が得られなかったため、復帰突然変異試験ではdimethylsulfoxide（DMSO）を、染色体異常試験では培養液を抽出溶媒として選択することが適当であると考えられた。

## 2) 感作性試験用抽出条件及び媒体の検討

被験物質に、抽出溶媒2種（メタノール及びアセトン）をそれぞれ加え、室温（実測値16.4～22.3℃）で72時間27分抽出を行った。

いずれの抽出溶媒でも、被験物質の溶解、原形をとどめないほどの変形及び変質はみられず、抽出率は、メタノールが0.49w/w%、アセトンが0.47w/w%であったため、抽出率の高いメタノールが感作性試験用抽出溶媒として適当であると考えられた。また、メタノールで得られた抽出物を用いて、注射用水、ゴマ油、DMSO及びアセトンで溶解性の検討を行った結果、すべての媒体について均一に懸濁し、懸濁液は27Gの注射針を通過したため、感作性試験の皮内感作及び塗布感作用媒体には注射用水を、惹起用の媒体にはアセトンを使用することが適当であると判断した。

## 3) 皮内反応試験及び急性全身毒性試験用抽出条件の検討

被験物質に、2種類の抽出溶媒（生理食塩液及びゴマ油）を加え、37.1～37.7℃で72時間28分間抽出を行った結果、被験物質に変化はみられなかったため、皮内反応試験及び急性全身毒性試験用抽出条件は、 $37 \pm 1$ ℃、 $72 \pm 2$ 時間が適当であると考えられた。

以上の結果より、遺伝毒性試験では、復帰突然変異試験でDMSOを、染色体異常試験で培養液を抽出溶媒として選択することが適当であると判断した。感作性試験では、抽出溶媒にメタノールを、皮内感作及び塗布感作用の媒体に注射用水を、惹起用の媒体にアセトンを使用することが適当であると判断した。皮内反応試験及び急性全身毒性試験用抽出条件では、生理食塩液及びゴマ油ともに $37 \pm 1$ ℃、 $72 \pm 2$ 時間の抽出条件が適当であると判断した。

## 【細胞毒性試験】

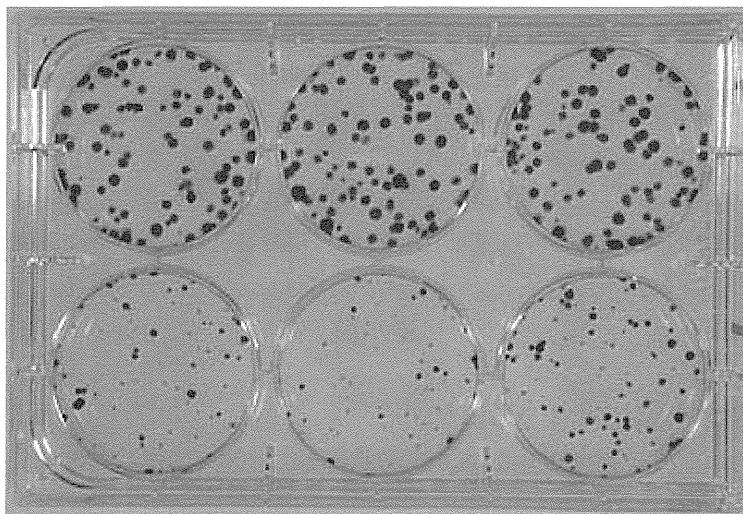
### 〈試験目的〉

哺乳類培養細胞（V79細胞、L929細胞など）を用いて、試験試料に細胞毒性があるかどうかを調べる。

### 〈試験内容〉

試験試料は、血清添加培地を用いて抽出を行う。測定は、細胞をシャーレ全体に播種し、抽出液を加えて7日間培養する。陰性対照群、陽性対照群およびコントロール群を設定し、1プレートあたりのコロニー数を計測する。判定は、試験試料群のコロニー形成率が、コントロール群に対して30%を超えて低下した場合（コロニー形成率が70%未満の場合）、細胞毒性作用有りと評価する。また、試験試料群のIC<sub>50</sub>値（コントロール群のコロニー数を50%阻害する試験試料の抽出液の濃度）を陽性対照群と比較し、次の表から被験物質の相対的な細胞毒性強度を評価する。

被験物質のIC <sub>50</sub>	細胞毒性強度
100%以上	細胞毒性は無か非常に弱い
陽性対照材料Bより弱い	弱い細胞毒性
陽性対照材料AとBの間	中程度の細胞毒性
陽性対照材料Aより強い	強い細胞毒性



陰性対照群

陽性対照群



## 細胞毒性試験実施概要

人工気管の細胞毒性を評価するため、その培地抽出液を用いて、ほ乳類培養細胞（V79細胞）のコロニー形成阻害試験を実施した。人工気管の抽出液濃度は、5、10、20、40、60、80及び100%の7段階とした。群構成は、コントロール群（M05培地群）、陰性対照材料群、陽性対照材料群、被験物質群、コントロール群 [ジメチルスルホキシド（DMSO）群] 及び陽性対照物質群とした。コントロール群のコロニー数の平均値を100%とした時の各濃度あたりのコロニー形成率（%）を求め、コロニー形成を50%阻害する濃度であるIC<sub>50</sub>値（%）を求めた。得られた被験物質群のIC<sub>50</sub>値を陽性対照材料群のIC<sub>50</sub>値と比較し、被験物質の相対的な細胞毒性強度を評価した。

- 1) 人工気管の培地抽出液におけるコロニー形成率は、いずれの濃度においても低下を示さず、IC<sub>50</sub>値は100%以上であったことから、細胞毒性は無か非常に弱いと判定した。
- 2) 播種した細胞数と実際に形成したコロニー数から求めたコロニー形成能（%）は、コントロール群であるM05培地群及びDMSO群でそれぞれ116.0%及び112.3%であり、試験に用いた細胞のコロニー形成能は良好（100±20%）であった。
- 3) 陰性対照材料群の100%抽出液のコロニー形成率は101.5%（平均117.7個）であり、コントロール群（M05培地群、平均116.0個）と同程度（100±20%）であった。
- 4) 陽性対照材料群の抽出液の濃度とコロニー形成阻害の強さに用量反応関係がみられ、得られたIC<sub>50</sub>値が陽性対照材料A及びBでそれぞれ7%未満（0.97%）及び80%未満（57.39%）であり、さらに、陽性対照物質群のIC<sub>50</sub>値が背景データの範囲（Mean±3SD）内であったことから、試験は適切な条件で実施されたと判断した。

以上の結果から、本試験条件下において、人工気管のほ乳類培養細胞（V79細胞）に対する細胞毒性は無か非常に弱いと結論した。

## 【感作性試験】

### 〈試験目的〉

本試験は、試験試料が遅延型アレルギー性皮膚炎を引き起こす可能性について評価する試験である。試験は、最も高感度な方法とされているモルモットを用いたMaximization法で行われる。

### －Maximization法－

Maximization法は、アジュバント（Freund's complete adjuvant）を用いて感作性に対する動物での感受性を高め、低感作性物質の検出力に優れているとされ、広く行われている方法である。

### 〈試験内容〉

投与物質は、試験試料から有機溶媒を用いて抽出された抽出物を適切な媒体に溶解（懸濁）させ使用する。抽出条件は、抽出検討試験で決定した条件で行う。抽出後、抽出に使用した医療機器の重量と抽出物重量から抽出率を算出して $0.5w/w\%$ 以上の場合には投与濃度を $10\%$ とし、 $0.5w/w\%$ 未満の場合には得られた抽出物に対し試験試料 $1g$ 当たり $1mL$ の割合で媒体を加えて調製する。また、惹起時には複数濃度を設定する。

試験群構成として、試験試料群、陰性対照群および陽性対照群の3群を設定し、動物数は試験群が10匹、対照群はそれぞれ5匹とする。

群	感作1回目（皮内）	感作2回目（塗布）	惹起	動物数
1	媒体	媒体	100、50、25及び 12.5%試験試料抽出液* 及び媒体	5
2	100% 試験試料抽出液*	100% 試験試料抽出液*		10
3	$0.1w/v\%$ DNCB	$0.1w/v\%$ DNCB	$0.1w/v\%$ DNCB	5

\*：抽出率が $0.5w/w\%$ 以上の場合

DNCB：2、4-dinitrochlorobenzene（陽性対照物質として使用）

投与は、感作処置を2回行い、感作終了の約2週間後に惹起処置を1回行う。初回感作として、モルモットの背部肩甲骨上（図1 投与部位、感作部位）の左右3カ所（A、BおよびC）に皮内投与を行い、初回感作から約1週間後に、2回目の感作処置として同部位に経皮投与する。2回目の感作処置から約2週間後に惹起処置として図1 投与部位の惹起部位（D、E、F、GおよびH）に経皮投与を行う。

惹起後24、48および72時間に皮膚の状態を表1〔皮膚（皮内）反応の評点付けシステム〕に従って肉眼的に観察し、評価する。

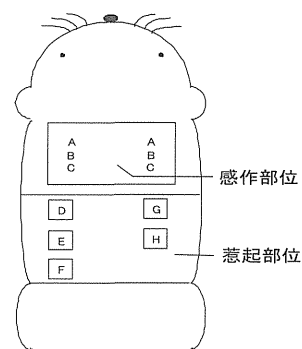


図1 投与部位

表1 皮膚（皮内）反応の評点付けシステム (ISO 10993-10,6 Irritation tests)

紅斑及び痂皮の形成	
紅斑なし	0
非常に軽度な紅斑（かろうじて認識できる）	1
はっきりした紅斑	2
中程度ないし高度紅斑	3
高度紅斑からわずかな痂皮の形成（深部損傷まで）	4
	[最高点4点]
浮腫の形成	
浮腫なし	0
非常に軽度な浮腫（かろうじて認識できる）	1
軽度な浮腫（はっきりとした膨隆による明確な縁が識別できる）	2
中程度浮腫（約1mmの膨隆）	3
高度浮腫（1mm以上の膨隆と暴露範囲を超えた広がり）	4
	[最高点4点]
	[紅斑・痂皮及び浮腫の合計点数の最高点8点]

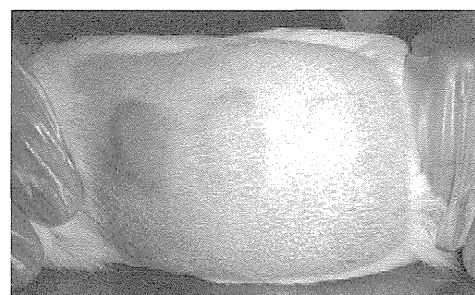


写真 惹起部位にみられた皮膚反応

## 【皮内反応試験】

### 〈試験目的〉

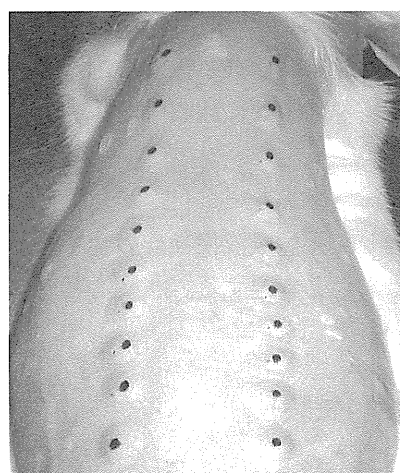
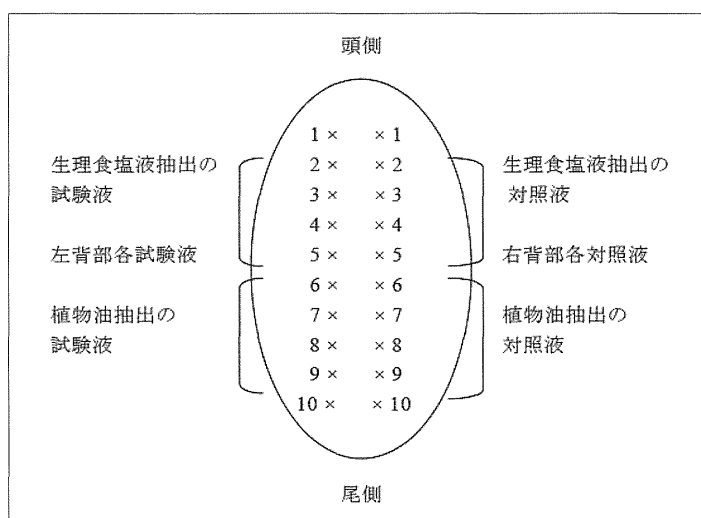
本試験は、試験試料から生理食塩液あるいは植物油（ゴマ油）を用いて抽出した抽出液（試験液）をウサギの皮内へ投与し、投与部位に対する刺激性についての調べる試験である。

### 〈試験内容〉

抽出溶媒として、生理食塩液およびゴマ油を使用する。抽出条件は、抽出検討試験で決定した条件で行う。対照液として、抽出溶媒単独（試験試料を加えない）で、試験試料と同条件で操作を行ったものを対照液とする。

投与日までに背部の毛刈をしたウサギ3匹を用いて、抽出液を背部に各5ヶ所ずつ皮内投与する [図1 投与部位（例）参照]。

図1 投与部位（例）



投与終了後の背部皮膚

投与後24、48および72時間に皮膚の状態を表1 [皮膚（皮内）反応の評点付けシステム：46頁] に従って肉眼的に観察する。紅斑と浮腫のすべての評点から試験液の平均スコアと対照液の平均スコアを求め、その差をもとに評価を行う。なお、3匹の動物を用いた試験の反応が疑わしい場合は、更に3匹を追加して試験を行う。

## 【急性全身毒性試験】

### 〈試験目的〉

本試験は、試験試料から生理食塩液あるいは植物油（ゴマ油）を用いて抽出した抽出液をマウスの静脈内あるいは腹腔内に単回投与し、急性毒性を示すかを調べる試験である。

### 〈試験内容〉

抽出溶媒として、生理食塩液およびゴマ油を使用する。抽出条件は、抽出検討試験で決定した条件で行う。対照液として、抽出溶媒単独（試験試料を加えない）で、試験試料と同条件で操作を行ったものを対照液とする。

生理食塩液の抽出液および生理食塩液の対照液では静脈内投与、植物油の抽出液および植物油の対照液では腹腔内投与とし、いずれの抽出液も体重1kg当たり50mLの投与容量で各5例のマウスに投与を行う（表1 試験群構成参照）。

表1 試験群構成

群	投与物質	投与経路	投与容量(mL/kg)	動物数
1	生理食塩液の対照液	静脈内	50	5
2	生理食塩液の抽出液	静脈内	50	5
3	ゴマ油の対照液	腹腔内	50	5
4	ゴマ油の抽出液	腹腔内	50	5

**検査項目：**

**一般状態観察**

全例について投与直後、投与後4、24、48および72時間に観察を行う。なお、死亡例が認められた場合は、ただちに剖検する。

**体重測定**

全例について投与直後、投与後4、24、48および72時間に測定を行う。

**剖検**

投与後72時間の観察期間終了後、全例について、投与部位、心臓、肺、消化管、肝臓、脾臓、腎臓および生殖器を含む主要器官を肉眼的に観察する。

**判定方法：**

観察期間を通して、試験液投与群の全ての動物に、対照液投与群と比較して強い反応が認められない場合には急性全身毒性はないと判定する。

**【埋植予備検討試験】**

**〈試験目的〉**

本試験は、試験試料をウサギの背部皮下に埋植したときの、試験試料周囲組織にみられる変化を調べ、試験試料が周辺組織に与える影響について予備的に検討する。

**〈試験内容〉**

試験試料は、厚み0.3~1.0mm、直径約10~12mmの円板状に可能な限り近い形とする。

陰性対照として、高密度ポリエチレンシート（厚さ約1mm）を設定する。なお、試験試料は厚さ1mm以上になるため、同様の厚さの高密度ポリエチレンシートの使用も考慮する。

埋植部位は臨床適用部位に近い皮下とし、埋植期間につき、2匹の動物を設定する。埋植期間は、4、8および12週間とする。

全身麻酔下でウサギの背部に試験試料および陰性対照を各2ヶ所（1匹）に埋植する。埋植期間終了後剖検を行い、埋植部位の肉眼的観察および組織学的検査を行う。

**試験群構成**

被験物質及び対照物質		動物数		
背部左側皮下	背部右側皮下	4週間	8週間	12週間
試験試料、陰性対照		2	2	2

## 【埋植試験】

### 〈試験目的〉

本試験は、試験試料をウサギの背部皮下に埋植したときの、試験試料周囲組織にみられる変化を調べ、試験試料が周辺組織に与える影響について検討する。

### 〈試験内容〉

試験試料は、厚み0.3~1.0mm、直径約10~12mmの円板状に可能な限り近い形とする。

陰性対照として、高密度ポリエチレンシート（厚さ約1mm）を設定する。なお、試験試料は厚さ1mm以上になるため、同様の厚さの高密度ポリエチレンシートの使用も考慮する。

埋植部位は臨床適用部位に近い皮下とし、埋植期間につき、少なくとも3匹の動物を用いて、試験試料および対照材料ともにそれぞれ合計10ヶ所以上の埋植部位を観察できるように設定する。埋植期間は、臨床適用期間を超える必要はないが、ヒトにおける埋植反応を予測し得る期間とする。吸収・分解性の材料でない場合は、埋植初期の反応、埋植中期の埋植試料と生体界面の組織反応、そして安定化した場合の反応を評価することが望ましいとされる。通常、短期の埋植期間は1週から4週までの間、長期埋植は12週を超える期間とされ、その間を中期埋植とする。なお、埋植期間については、人工気管の臨床使用期間および埋植予備検討試験の結果を参考に決定する予定である。

全身麻酔下でウサギの背部に試験試料および陰性対照を各2ヶ所／1匹に埋植する。埋植期間終了後剖検を行い、埋植部位の肉眼的観察および組織学的検査を行う。場合によっては、既承認品などを比較対照群として設定する。

### 試験群構成

被験物質及び対照物質		動物数		
背部左側皮下	背部右側皮下	○週間*	○週間*	○週間*
試験試料、陰性対照		5	5	5

\*：人工気管の臨床使用期間および埋植予備検討試験の結果を参考に決定する。

## 【遺伝毒性試験】

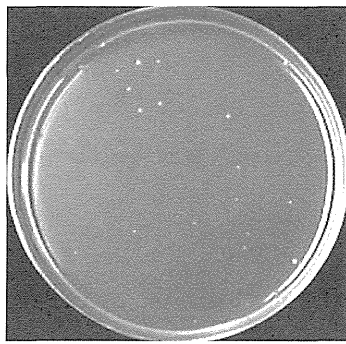
### 【試験－1 細菌を用いる復帰突然変異試験】

#### 〈試験目的〉

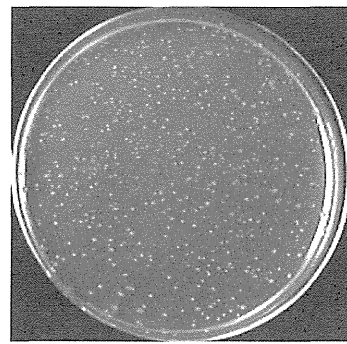
ネズミチフス菌（*Salmonella typhimurium*）TA98、TA100、TA1535、TA1537の4菌株および大腸菌（*Escherichia coli*）WP2uvrAを用いて、試験試料に突然変異誘発性があるかどうかを調べる。

#### 〈試験内容〉

試験試料は、抽出検討試験で決定した溶媒（メタノール、アセトンおよびDMSOのいずれか）を用いて抽出を行う。測定は、代謝活性化系の存在下（+S9）および非存在下（-S9）でプレインキュベーション法にて実施する。陰性対照および陽性対照を設定し、用量設定試験を実施後、本試験を行う。判定は、プレートあたりの復帰変異コロニー数（平均値）が陰性対照の2倍以上に増加し、用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加を示し、かつ、用量設定試験と本試験の間に再現性が確認された場合に陽性と判定し、それ以外の場合は陰性と判定する。



陰性対照のプレート



陽性対照のプレート

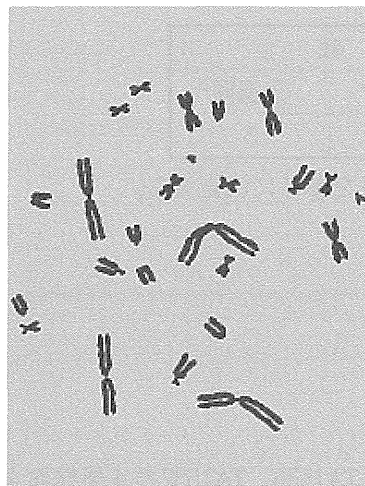
## 【試験－2 ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験】

### 〈試験目的〉

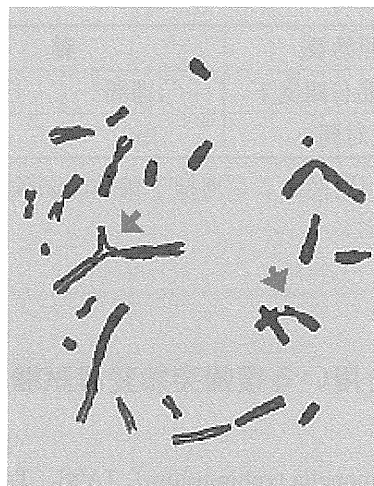
哺乳類培養細胞（CHL細胞、ヒトリンパ球）を用いて、試験試料に染色体異常誘発性があるかどうかを調べる。

### 〈試験内容〉

試験試料は、抽出検討試験で決定した溶媒（メタノール、アセトンおよび試験に使用する培地のいずれか）を用いて抽出を行う。測定は、代謝活性化系の存在下（+S9）および非存在下（-S9）で短時間処理法および連続処理法にて実施する。陰性対照および陽性対照を設定し、用量設定試験を実施後、本試験を行う。判定は、試験試料処理群の染色体異常を有する細胞の出現頻度について、陰性対照群と比較して明らかに上昇し、かつ、その作用に用量依存性が認められた場合に、陽性と判定する。



正常細胞（CHL）



構造異常細胞

治験実施計画の骨子（案）

治験の標題	生体内組織再生誘導型人工気管による気管再建に関する多施設共同試験		
治験の目的	生体内組織再生誘導型人工気管の有効性及び安全性を検討する。		
試験デザイン	多施設共同試験		
対 象	悪性腫瘍または炎症性疾患等による気管欠損患者		
選 択 基 準	<p>次のいずれの項目にも該当する患者を対象とする。</p> <p>1) 同意取得時の年齢が20歳以上75歳未満の患者</p> <p>2) 次のいずれかにより気管欠損が生じた患者</p> <p>① 悪性腫瘍、② 炎症性疾患、③ 外傷、④ 気管切開術後</p> <p>3) 気管欠損部位の大きさが、次のいずれかの満たす患者</p> <p>① 「全周の5分の1以上4分の3未満」かつ「気管軟骨3輪以上」の患者</p> <p>② 「全周の4分の1以上4分の3未満」かつ「気管軟骨2輪以上」の患者</p> <p>4) 治験実施にあたって来院スケジュール等を遵守することが可能な患者</p> <p>5) 文書により同意の得られた患者</p>		
除 外 基 準	<p>次のいずれかの項目に該当する患者は対象としない。</p> <p>1) 重篤な心循環、血液、肝、消化器、腎、肺疾患、内分泌、神経又は精神疾患を有する患者</p> <p>2) 重篤な出血やショック状態にある患者</p> <p>3) 重篤な感染症を有する患者</p> <p>4) ケロイド体質の患者</p> <p>5) 他の処置での治療が適切と考えられる患者</p> <p>6) 本治験への同意前12週間以内に他の治験に参加した患者</p> <p>7) 妊娠している、または本治験期間中に妊娠を希望する患者もしくは授乳中の患者</p> <p>8) その他、治験責任医師又は治験分担医師が治験参加を不適当と判断した患者</p>		
目 標 症 例 数	5例		
治 験 機 器	コ ー ド 名	未定	
	機 器	メッシュ（ポリプロピレン製）を補強リング（ポリプロピレン製）で補強し、コラーゲンスポンジ（ブタ皮膚由来）で被覆したもの	
観 察 期 間	48週間		
評 価	有 効 性	主要評価項目	気管再建術後8週時点の気管内腔径
		副次評価項目	気管再建術後48週時点の気管内腔径 気管再建術後8週、48週時点の気管内腔粘膜の再生 動脈血酸素飽和度（SpO <sub>2</sub> ）
	安 全 性	有害事象及び不具合	
治験調整医師	福島県立医科大学医学部 耳鼻咽喉科学講座 大森孝一		
実施医療機関数	3施設程度		
治験実施期間	2015年××月～2016年××月（組入れ期間：2015年××月～2015年××月）		

検査・観察スケジュール

別途作成

## 医療機器開発薬事戦略に関する研究

研究分担者 川上 浩司（京都大学大学院医学研究科 薬剤疫学 教授）

研究協力者 浜田 将太（京都大学大学院医学研究科 薬剤疫学 助教）

### 研究要旨

医療機器の開発についての薬事制度の調査に引き続き、国内の臨床研究の実施環境について調査検討した。新規の医療機器開発にあたっては、これらの制度や潮流をよく理解する必要がある。

### A. 研究目的

医療機器開発についての臨床研究環境について調査検討した。

### B. 研究方法

医療機器の開発にかかる臨床研究の環境について、治験中核病院・拠点医療機関（全40施設）を対象として、質問紙調査を実施した。治験中核病院・拠点医療機関は、医療機器開発において中心的な役割を担っているため、これらの医療機関における臨床研究環境を明らかにすることは極めて重要である。

主な調査内容は、①医療機器を用いた臨床研究（治験を除く）の実施状況、②臨床研究を実施する際の手順書、規定等の文書化、③医療機器の臨床研究を実施するにあたっての課題、④施設内のCRCの要員数および臨床研究支援、⑤厚生労働省医薬食品局長通知「臨床研究において用いられる未承認医療機器の提供等に係わる薬事法の適用に関する考え方」の認知度、⑥「未承認医療機器を用いた臨床研究実施の手引き」（医療技術産業戦略コンソーシアム（METIS）、日本医療機器産業連合会）の有用性とした。

質問紙は、各医療機関の臨床試験支援部門長宛に送付し、18施設から回答が得られた（回答率：45%）。

（倫理面への配慮）  
該当なし。

### C. 研究結果

C-1. 医療機器を用いた臨床研究（治験を除く）の

#### 実施状況について

既承認医療機器を用いた臨床研究については、12施設（67%）で実施経験があった。そのうち、11施設は既承認適応範囲内での使用経験があり、9施設（50%）は適応範囲外での使用経験があった（重複あり）。

一方、未承認医療機器を用いた臨床研究については、9施設（50%）で実施経験があった。

実施件数については、過去2年間で、中央値で5件であったが、施設によって1～22件とばらつきが大きかった。

#### C-2. 臨床研究を実施する際の手順書、規定等の文書化について

調査時点において、臨床研究用の手順書等は、13施設（72%）ですでに作成されていた。そのうち、3施設においては、GCPに準拠した水準での手順書等であった。4施設（22%）で未作成であったが、その全施設において、作成中という状況であった。

医療機器を用いた臨床研究用の手順書等が医薬品を用いた臨床研究用の手順書等と同一であったのは15施設（83%）であったが、そのうち6施設のみが既承認および未承認医療機器を用いた臨床研究のどちらも対象としたものであった。

#### C-3. 医療機器の臨床研究を実施するにあたっての課題

医薬品に比べて医療機器の臨床研究の実施件数は極めて少ないことを課題として挙げたのが12施設（67%）であり、最も多かった。続いて、臨床研究用の医療機器を通常診療用の機器と分離した管理が煩雑であること（5施設、28%）、施設内に研究対象としている医療機器の専門家が不足している（または、不在である）



こと（4施設、22%）、医薬品と医療機器で臨床研究の方法が異なり、医薬品での臨床研究の経験が生かせないこと（4施設、22%）が挙げられた。

#### C-4. 施設内のCRCの要員数および臨床研究支援

CRCの業務範囲として、主に治験の支援を行い、研究案件によっては臨床研究の支援も行う施設は、11施設（61%）であった。治験と臨床研究の区別無く支援を行う施設は、4施設（22%）、治験のみを支援し、臨床研究は担当しない施設は、2施設（11%）であった。

CRCの要員数としては、中央値で7人であり、施設によって2～18人とばらつきが大きかった。そのうち、7施設において、医療機器担当のCRCが置かれており、中央値で2人（範囲：1～5人）であった。ほとんどの施設において、CRCが不足していると考えられていたが、約半数の施設では増員が困難な状況にあるという回答が得られた。

#### C-5. 厚生労働省医薬食品局長通知の認知度

通知の認知度は89%（16施設）と高かった。10施設から、本通知によって、未承認医療機器の臨床研究が活発になると考えているという回答があった。

#### C-6. 「未承認医療機器を用いた臨床研究実施の手引き」の有用性

手引きに対して高い評価が得られた。対象としては、医師、歯科医師、CRC、事務局、倫理審査委員会委員にとくに有用であるとの意見が挙げられた。手引きの内容においては、臨床研究実施方法や臨床研究機器の管理に関する記述や、共同研究契約書等のひな型、また臨床研究全体のフローチャート等が高く評価された。

### D. 考 察

我々の知る限り、本研究は、本邦において、医療機関における医療機器の臨床研究環境を調査した初めての研究である。本研究によって、現状を把握するだけでなく、いくつかの課題が明らかになった。

臨床研究を実施する際の手順書、規定等の文書化に関連して、2つの課題が見出された。1点目は、いくつかの医療機関において、GCPに準拠した水準での手順書等が作成されていた。臨床研究の実施に際しては、GCPに準拠する必要はない。必要以上の高い水準を求めることにより、時間、資金、労力の無駄が引き起こされることが懸念された。この根底には、治験と臨床研究という2つの規制が存在することがあるが考えら

れた。2点目は、医療機器と医薬品とで同一の手順書等を用いている医療機関がほとんどであったことである。本調査の回答者は、医薬品又は医療機器を用いた臨床研究の方法が異なることを認識しており、医薬品を用いた臨床研究で培われたノウハウが活かしきれないことを一つの課題として挙げている。しかしながら、医療機器の評価における独特の方法等が盛り込まれていないことが示唆された。

また、医療機器を用いた臨床研究をにおける専門家の不足も重要な課題である。医療機器の開発においては、広範な領域横断的な知識が求められる。医療機器開発を担う人材を養成することも急務である。

### E. 結 論

今年度は、人工気管などの医用材料の医療機器開発を念頭に、臨床研究の実施環境について調査検討した。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) 川上浩司. アメリカにおける薬事規制の動向. 再生医療における臨床研究と製品開発. 技術情報協会. 東京. pp311-314, 2013.
- 2) 川上浩司. 薬事から見た再生医療周辺技術とバイオマテリアル. 幹細胞医療の実用化技術と産業展望. 江上美芽・水谷 学監修. シーエムシー出版. 東京. pp11-15, 2013.
- 3) 川上浩司. わが国の臨床研究の現状と未来. 医学のあゆみ. 244(13) : 1093-1097, 2013.
- 4) Hamada S, Yamauchi Y, Miyake O, Nakayama M, Yamamoto H, Kawakami K. Current environment for conducting clinical researches with medical devices in hospitals in Japan. Journal of Clinical Trials. 4(1) : DOI 1000153(in press), 2014.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

該当なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中村達雄 萩原明於 稲田有史 金丸眞一	末梢神経の再生医療	岡野栄之, 出澤真理	再生医療叢書7 神経系	朝倉書店	東京	2013	138-153
川上浩司	アメリカにおける薬事規制の動向		再生医療における臨床研究と製品開発	技術情報協会	東京	2013	311-314
川上浩司	薬事から見た再生医療周辺技術とバイオマテリアル	江上美芽, 水谷 学 (監修)	幹細胞医療の実用化技術と産業展望	シーエムシー出版	東京	2013	11-15

#### 雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
大森孝一, 多田靖宏, 野本幸男, 谷 亜希子, 仲江川雄太, 金丸眞一, 中村達雄	〈特集 再生医療技術の新展開〉 I. 現在実現化に最も近い, 外科領域における再生医療研究 3. 生体内組織再生誘導型の人工気管	Surgery Frontier	21 (1)	31-35	2014
Otsuki K, Imaizumi M, Nomoto Y, Nomoto M, Wada I, Miyake M, Omori K	Effective embryoid body formation from induced pluripotent stem cells for regeneration of respiratory epithelium	Laryngoscope	124 (1)	E8-14	2014
Tani A, Tada Y, Takezawa T, Wada I, Imaizumi M, Nomoto Y, Nomoto M, Omori K	Regenerative process of tracheal epithelium using a collagen vitrigel sponge scaffold	Laryngoscope	123 (6)	1469-1473	2013
Nomoto M, Nomoto Y, Tada Y, Tani A, Otsuki K, Suzuki R, Nakamura T, Omori K	Bioengineered trachea using autologous chondrocytes for regeneration of tracheal cartilage in a rabbit model	Laryngoscope	123 (9)	2195-2201	2013
Imaizumi M, Nomoto Y, Sugino T, Otsuki K, Omori K	Implantation site-dependent differences for tracheal regeneration with induced pluripotent stem cells (iPS cells)	Acta Oto-Laryngologica	133 (4)	405-411	2013
Sato S, Miyake M, Hazama A, Omori K	Povidone-iodine-induced cell death in cultured human epithelial Hela cells and rat oral mucosal tissue	Drug Chem Toxicol	Epub Nov 12		2013
Nakamura T, Kojima F, Sato T, Hamaji M, Kaneko M, Kanemaru S, Nakada A, Omori K, Shigeno K, Wakatsuki M, Endo K	Novel tracheal prosthesis using in situ Tissue Engineering	Int J Artif Organs	36 (8)	585	2013
Nakada A, Shigeno K, Sato T, Kobayashi T, Wakatsuki M, Uji M, Nakamura T	Manufacture of a weakly denatured collagen fiber scaffold with excellent biocompatibility and space maintenance ability	Biomedical Materials	8	DOI 04510	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uji M, Nakada A, Nakamura T	Intravenous administration of adipose-derived stromal cells does not ameliorate bleomycin-induced lung injury in rats	Open Journal of Regenerative Medicine	2 (2)	39-45	2013
Wakatsuki M, Kaneko M, Nakada A, Shigeno K, Nakamura T	Promotion of bone repairing by use of collagen scaffold incorporating recombinant human FGF-2 in rabbit skull defect model	Int J Artif Organs	36 (8)	551	2013
Machiguchi T, Nakamura T	Cellular interactions via conditioned media induce <i>in vivo</i> nephron generation from tubular epithelial cells or mesenchymal stem cells	Biochemical and Biophysical Research Communications	435	327-333	2013
Kojima F, Sato T, Takahata H, Okada M, Sugiura T, Oshiro O, Date H, Nakamura T	A novel surgical marking system for small peripheral lung nodules based on radio frequency identification technology: Feasibility study in a canine model	J Thorac Cardiovasc Surg	In press		2013
Hamada S, Yamauchi Y, Miyake O, Nakayama M, Yamamoto H, Koji Kawakami	Current environment for conducting clinical researches with medical devices in hospitals in Japan	Journal of Clinical Trials	4 (1) In press	DOI 1000153	2014
川上浩司	わが国の臨床研究の現状と未来	医学のあゆみ	244 (13)	1093-1097	2013
Ohara K, Kohno M, Horibe T, Kawakami K	Local drug delivery to a human pancreatic tumor via a newly designed multiple injectable needle	Molecular and Clinical Oncology	1	231-234	2013
川上浩司	医療イノベーションにおける創薬の出口戦略	医薬ジャーナル 増刊号「新薬展望2013」	49 (s-1)	25-29	2013
Yamauchi Y, Kawashima Y, Urushihara H, Kita F, Kobayashi Y, Hinotsu S, Nakagawa M, Kawakami K	Survey to physician toward their understanding of regulatory environment of clinical trials in Japan	General Medicine	In press		2013
Takabayashi N, Urushihara H, Kawakami K	Biased safety reporting in blinded randomized clinical trials: meta-analysis of angiotensin receptor blocker trials	PLoS ONE	In press		2013

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷