

1. 生物学的的安全性評価の考え方
2. ISO10993-1の改正点と新しい評価の流れ(例)
- 3. 生物学的的安全性評価試験について**
4. 化学分析データ取り扱いの困難さと利用のポイント

# 主な生物学的安全性試験と関連情報

- 抽出媒体の選択方法について
- 遺伝毒性試験
- 発がん性試験
- 細胞毒性試験
- 感作性試験
- 刺激性試験
- 埋植試験
- 全身毒性試験
- 発熱性試験
- エンドトキシン試験 (non-GLP)
- 血液適合性試験
- 生殖発生毒性試験

# ●生物学的安全性評価のエンドポイントとすべき試験の種類

| 接触期間（累積）：<br>A:一時的接触<br>(24時間以内)<br>B:短・中期的接触<br>(24時間を超え30日以内)<br>C:長期的接触<br>(30日を超える) |         | 生物学的安全性評価項目 |      |     |          |     |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|---|---------|-------------|------|-----|----------|-----|--------|---------|---------|--------|----|-------|------|------|--------|------|
|   |         | 物理学的・化学的情報  | 細胞毒性 | 感作性 | 刺激性/皮内反応 | 発熱性 | 急性全身毒性 | 亜急性全身毒性 | 亜慢性全身毒性 | 慢性全身毒性 | 埋植 | 血液適合性 | 遺伝毒性 | がん原性 | 生殖発生毒性 | 生分解性 |
| 非接触機器   |         |             |      |     |          |     |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
| 表面接触機器  | 皮膚      | A           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   | 粘膜      | A           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       | E    |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       | E    | E    |        |      |
|   | 損傷表面    | A           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   |        |         |         |        |    |       | E    | E    |        |      |
| 体内と体外を結ぶと連なる機器  | 血液路間接的  | A           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  | E     | E    | E    | E      |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  | E     | E    | E    |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  | E     | E    | E    |        |      |
|   | 組織/骨/歯質 | A           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       |        | E  |       | E    |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  |       | E    | E    |        |      |
|   | 循環血液    | A           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       |         |        |    | E     | E*   |      |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       |        | E  | E     | E    |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  | E     | E    | E    |        |      |
| 体内植込み機器   | 組織/骨    | A           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       |         |        |    |       |      |      |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       |        | E  |       | E    |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  |       | E    | E    |        |      |
|   | 血液      | A           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       |         |        |    | E     | E    | E    |        |      |
|   |         | B           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       |        | E  | E     | E    |      |        |      |
|   |         | C           | 要    | E   | E        | E   | E      | E       | E       | E      | E  | E     | E    | E    |        |      |

物理学的・化学的情報を整理後、必要に応じて試験を実施する

要: リスクアセスメントに先立って必要な情報、E: リスクアセスメントにおいて評価するエンドポイント、\*: 体外循環装置に使用される全ての機器は評価対象

# 抽出媒体の選択方法について

## ●医療機器の材料特性を考慮する。

例えば、化学物質、水に溶/不溶、金属、低分子・高分子有機化合物(樹脂)・・・

## ●製品の使用条件を考慮する。

例えば、接触部位、期間

## ●試験の目的を考慮する。

例えば、ハザードの検出/臨床使用時のリスク評価

## ●各試験に必要な抽出時間の適切性を考慮する。

例えば、実臨床時とワーストケースどちらを選ぶか？

化学物質の遺伝毒性を検出するための試験

変異原性 (mutagenicity) とは？

- ・生体の遺伝物質に作用し、**突然変異**を起こす力＝遺伝毒性
- ・体細胞に作用する場合：癌化や老化に関係
- ・生殖細胞に作用する場合：次世代に影響

突然変異 (mutation) とは？

- ・遺伝子突然変異 (gene mutation) : 体細胞変化においては発がん性に関係
- ・染色体異常 (chromosomal aberration) : 染色体の数や形態が変化する

<主な遺伝毒性試験法>

| 指標      | <i>In vitro</i>  | <i>In vivo</i>                              |
|---------|--|---|
| 遺伝子突然変異 | AMES テスト ( <b>復帰突然変異試験</b> )<br>培養細胞法 ( <b>マウス・リンフォーマTK突然変異</b> )<br>その他 | スポットテスト<br>特定座位法<br>その他                     |
| 染色体異常   | 培養細胞法 ( <b>染色体異常試験</b> )<br>その他 ( <b>姉妹染色体交換</b> )                       | 小核法 ( <b>小核試験</b> )<br>優性致死法<br>相互転座<br>その他 |
| DNA損傷   | Rec-assay<br>不定期DNA合成  | —   |

## 発がん性試験

動物での催腫瘍性を検索することにより化学物質の発がん性を予測し、評価するための試験

ISO10993-3

### 発がん性 (carcinogenicity) とは？

- ・生体に作用し、癌を発生させる作用

### 発がん物質の種類は？

#### ● 遺伝子毒性型発がん物質 (genotoxic carcinogen)

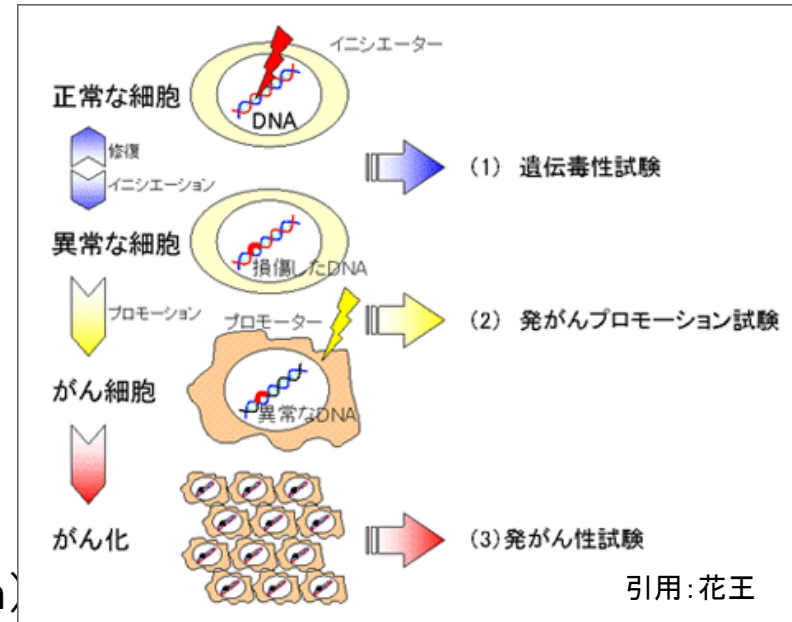
→ 変異原性に基づく化学物質  
(遺伝子に直接的な影響)

→ 遺伝毒性試験でスクリーニングが可能

#### ● 非遺伝子型発がん物質 (non-genotoxic carcinogen)

→ 遺伝子に直接的な障害を与えずに発がんを起こす

→ 遺伝毒性試験ではスクリーニングができない(動物への長期間投与など)



### 発がん性が懸念される場合は？

- ① 遺伝毒性試験成績からがん原性が懸念される
- ② 同一原材料などでヒト関連がん原性が知られている
- ③ 構造活性相関から遺伝毒性またはがん原性が示唆される
- ④ 長期試験(亜急性毒性、亜慢性毒性など)から前がん病変が認められる
- ⑤ 未変化体or代謝物が長期間組織に停滞し、局所の組織変化あるいは病的反応を引き起こす

## 細胞毒性試験

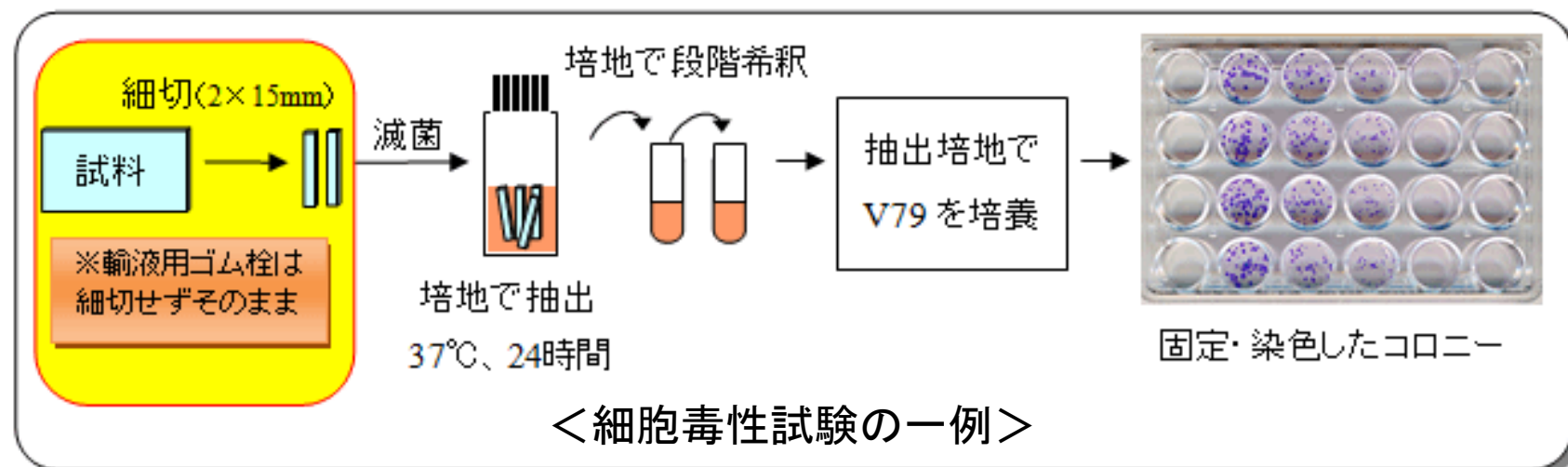
### 化学物質の細胞傷害性を検出するための試験

#### 細胞傷害 (cellular injury) とは？

- ・低酸素症、物理的因子、化学的因子、感染因子、免疫反応、栄養因子
- ・直接的な傷害と環境変化による二次的な傷害

#### 細胞毒性試験の位置付け

- ・動物レベルでの毒性試験結果をより単純な試験系として、細胞レベルで明らかにしようとするもの
- ・全てのカテゴリーのデバイスに対して実施される試験
- ・材料からの抽出成分と細胞の接触後の反応により評価を行なう
- ・生物学的安全性試験の中では感度が高い試験



## 感作性試験

- ・有害性の未知な因子の生体リスクのスクリーニング試験
- ・材料から遊離してくる化学物質のヒトでの接触アレルギーリスクを予知
- ・経口や吸入曝露による感作性を検出するものではない

ISO10993-10

### 免疫毒性と抗原性とは？

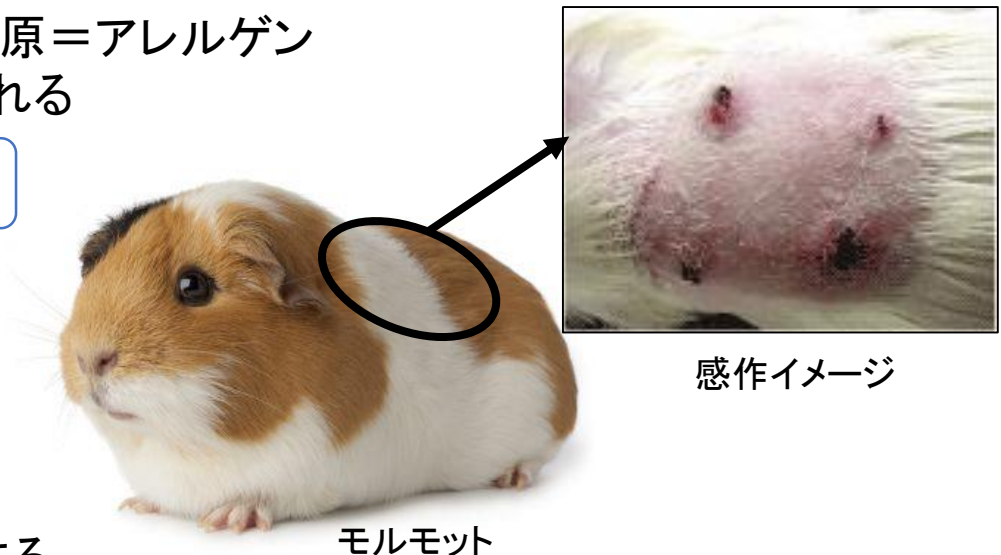
- ・免疫機構に起った組織学的変化及び諸応答の変容を免疫毒性という
- ・化学物質自体が抗原となって起る生体にとって不利益なアレルギー反応を抗原抗体反応という
- ・有害物質→生体に作用→諸応答の変化→組織学的変化(組織学的変化より早く発現)

### アレルギー反応とは？

- ・必要ではない、好ましからざる免疫応答によって生体が障害されるなどの不利益がおこること、過敏反応
- ・アレルギー応答を起こすことになった抗原＝アレルゲン
- ・アレルギー反応は、I型～IV型に分類される

### 感作性の要因とは？

- 1)化学物質の感作性の強さ  
→ 動物で確認、ヒト臨床使用前の確認
- 2)その物質の製品中の濃度と溶出性  
→ 化学分析、ヒト臨床使用前の確認
- 3)そのような製品の使用形態(頻度)
- 4)使用者の体質により毒性強度が変化する



感作イメージ

モルモット



## 刺激性試験

・原因物質よりダメージを受けた皮膚の細胞から放出された炎症メディエーターによって生じる可逆的な炎症反応

ISO10993-23

### 刺激性の要因とは？

- 1) 被験物質の毒性ポテンシャル
- 2) 被験物質の皮膚透過性
- 3) 炎症メディエーターの変動
- 4) 被験物質の皮膚内代謝

※(動物を用いない)動物実験代替法には1)~4)のいずれかが含まれていること

皮膚刺激:

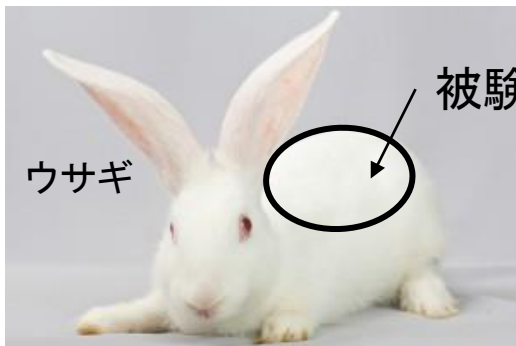
刺激性(可逆的)と腐食性(不可逆的)に区別される。

### 眼刺激試験とは？

- ・眼に接触する可能性のあるもの(コンタクトレンズなど)
- ・結膜の充血、浮腫、角膜の混濁

### 光毒性試験とは？

- ・主に医薬品において、光が関与して初めて発生する刺激反応
- ・光感受性物質を含む製品において評価される(皮膚塗布剤)



投与物質が原因で、投与部位が紅斑・浮腫などの炎症反応を示す



**刺激性あり**

## 埋植試験

- ・生体内に埋植/留置される物質の局所組織に与える影響
- ※動的な負荷を受けるような機械的/力学的影響をみるものではない

ISO10993-6

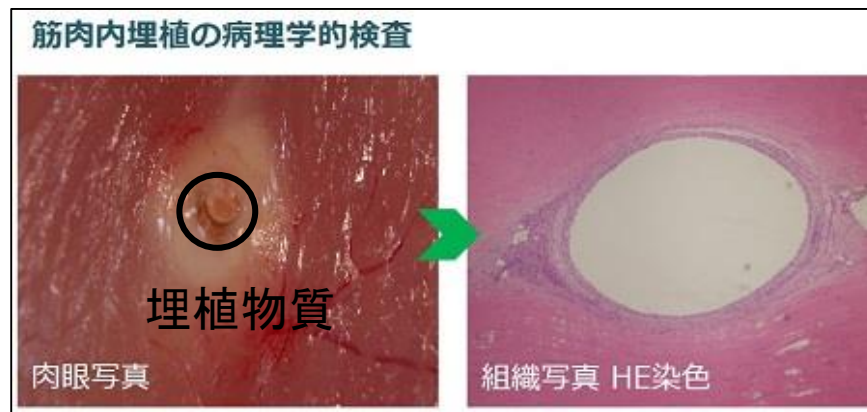
### 埋植試験の種類

- ・現在では、可能な限り実臨床使用実態に合わせた埋植部位を選択
- ・「皮下埋植試験」、「筋肉埋植試験」、「骨内埋植試験」、及び「脳内埋植試験」
- ※使用模擬試験の位置づけとし、上記部位以外での埋植評価が行われる場合もある

### 埋植試験の評価

- ・埋植した周辺組織の評価がメイン
- ・全身性毒性検査項目や対照群を入れれば、合わせて全身毒性の評価も可能

注意: 吸収性素材の観察期間は、埋植試験を実施する前に、製品の分解挙動や吸収・代謝の状況を確認してから設定すること



## 全身毒性試験

- ・哺乳類動物により医療機器や全身の毒性を評価する試験で、曝露時間により試験を分けている
- ・投与経路は静脈内か腹腔内、経口

ISO10993-11

### 急性全身毒性試験とは？

- ・最終製品または原材料から抽出した溶液中に**急性の全身毒性を有する物質**が存在しないことを確認する

※医薬品の「単回投与試験」では、他の試験で用いられないような高用量の被験物質を曝露させ、毒性の推移を解明することであり、医療機器の急性全身毒性試験とは評価する目的が異なる。投与量は反復試験とは異なる。

### 亜急性全身毒性試験とは？

- ・試験検体の反復又は継続的曝露後24時間以降～28日までの時期に生じる毒性（反復投与期間：14～28日間→静脈投与14日間未満、その他14～28日間）

### 亜慢性全身毒性試験とは？

- ・寿命の一部の期間、試験検体を反復又は継続的に曝露することにより生じる毒性（反復投与期間：齧歯類90日間、他の動物種では寿命の10%を越えない期間。静脈内投与の場合は14～28日間）

### 慢性全身毒性試験とは？

- ・寿命の過半の期間（通常10%を越える期間）にわたり、試験検体を反復又は継続的に曝露することにより生じる毒性（通常、6～12か月の期間で実施される）

## 発熱性試験

- ・新しい材料中の発熱性物質の存在有無を製品設計段階で調べる試験
- ・(工程管理)最終製品が患者に使用する際に体内に入って発熱するかどうか？

ISO10993-11

### 発熱性物質とは？

- ・ポリマー合成時に添加された化学物質
- ・天然由来の生物材料(コラーゲン、ゼラチンなど)のエンドトキシン など

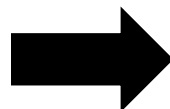
【エンドトキシン】 グラム陰性菌由来のポリ多糖類

【非エンドトキシン】 製品由来の物質、グラム陽性菌、病原性真菌、ウイルス由来物質

※別途製造工程中の「エンドトキシン」管理については、「エンドトキシン試験」で確認される



抽出物投与



抽出物中の物質が原因で、  
投与動物を発熱させる



**発熱性あり**

## 天然由来の医用材料とは？

- ・キチン、キトサン、植物ガム、ペクチン、アルギン酸、コラーゲン、ゼラチン など

## エンドトキシン試験方法は？

- ・第十八改正日本薬局方エンドトキシン試験 または JIS K 8008 4.3で規定
  - ・抽出物に特殊な試薬(ライセート試薬)で反応をみる
- ※その他、様々な医療機器の承認基準や認証基準にも要求事項がたてられている

## エンドトキシン汚染リスクの高いと考えられる医療機器は？

- ・天然由来原料から構成されている医療機器
- ・生体吸収材料の医療機器(分解産物が循環血液に取り込まれ排出される)
- ・原材料由来のエンドトキシン混入リスクが高い場合(製造工程以外で混入する場合)

※循環血液に接触する医療機器は一律リスクが高いものと位置付け、エンドトキシンの混入がないことが求められている

血液適合性試験の種類は？

| 試験項目 (Test category) |                        | 評価項目 (Tests by categories)   |
|----------------------|------------------------|--|
| 溶血性                  | 材料起因                   | 遊離ヘモグロビン測定 (ASTM、NIH)  |
|                      | 機械的因子起因                | 遊離ヘモグロビン測定   |
| 血栓性                  | <i>In vitro</i>        | 血液凝固<br>トロンビン-抗トロンビン複合体 (TAT)、フィブリノペプチド A(FPA)、部分トロンボプラスチン時間(PTT)  |
|                      |                        | 血小板活性化<br>血小板数及び活性化マーカー (血小板放出因子及び活性化マーカー ( $\beta$ -トロンボグロブリン( $\beta$ -TG)、血小板第4因子(PF4)、トロンボキサンB2(TxB2))、<br>または走査型電子顕微鏡検査による血小板形態観察 |
|                      |                        | 補体<br>SC5b-9 (C3aを追加してもよい)   |
|                      |                        | 血液学<br>全血算(CBC)、白血球活性化因子   |
|                      | <i>In vivo/Ex vivo</i> | 肉眼的観察、閉塞率、解剖学的検査、病理組織学的検査、走査型電子顕微鏡検査   |

## 生殖発生毒性試験

- ・化学物質の生殖発生に対する悪影響を検出するスクリーニング試験
- ・ヒトへの外挿性

ISO10993-3

### 発生毒性とは？

- ・環境要因が生殖細胞の形成から受精、子宮内発育、出生、成熟から死に至る発生過程のいずれかの時期に作用して、早期死亡、発育遅延、形態異常、機能異常を惹起する能力
- ・着床前期、器官形成期、胎児発育期への時期特異性の毒性を確認

### 生殖毒性とは？

- ・主に親世代からみた環境要因による不妊や次世代の発育異常
- ・雄：精子形成や性行動、生殖器等への毒性
- ・雌：性周期、性行動、受精、着床、妊娠、分娩、哺育行動等への毒性

### <試験の種類>

※実際の医薬品の毒性評価ではいくつかの試験を組合せて行い、柔軟な選択による評価が行なわれている

- 「初期胚発生」に関する試験：受胎能～着床まで
- 「出生から母動物の機能」に関する試験：出生前～出生後
- 「胚・胎児発生」に関する試験