

ケミカルキャラクタリゼーションおよび毒性学的リスク評価による医療機器の生物学的安全性評価

千葉ラボラトリー 福永 辰也

医療機器の生物学的安全性評価の基本的考え方が示された ISO10993-1¹⁾ において機器の物理学的・化学的情報の収集が、評価の最初のステップとして求められている。化学的情報の収集（ケミカルキャラクタリゼーション）は機器使用時に生体へ浸出してハザードとなり得る化学物質の種および量を、Extractables & Leachables (E&L) 分析等により明らかにすることを目的としている。化学物質の毒性学的情報と推定ばく露量から製品のリスクを見積ることで、評価すべき試験項目（エンドポイント）の選定および試験実施要否の検討、または臨床的に安全性が確立された既存機器との化学的同等性を評価するための情報として活用される。本稿では、ケミカルキャラクタリゼーションの概要について述べる。

1 はじめに

1.1 生物学的安全性評価の概要（ISO10993-1）

医療機器の使用により生じる潜在リスクからヒトを保護するため、ISO10993-1¹⁾ および国内ガイダンス（薬生機審発 0106 第 1 号²⁾）等において生物学的安全性評価の基本的な考え方が示されている。これは機器の安全性評価を行うため、必要とされる情報に対して不足している情報（ギャップ）を特定し、そのギャップを埋めるために必要な試験の実施を求めたものである。試験は

動物福祉を優先するため、①物理学的・化学的試験、② *in vitro* 試験等の代替試験、③ *in vivo* 試験の順に検討することが望ましいとされる。まず物理学的・化学的情報を収集したうえで、必要な代替試験および *in vivo* 試験の実施要否を判断することが求められており、化学的情報の収集手段である“ケミカルキャラクタリゼーション”が ISO10993-1 におけるアプローチフロー（図 1）の“最初のステップ”として重要視されている。

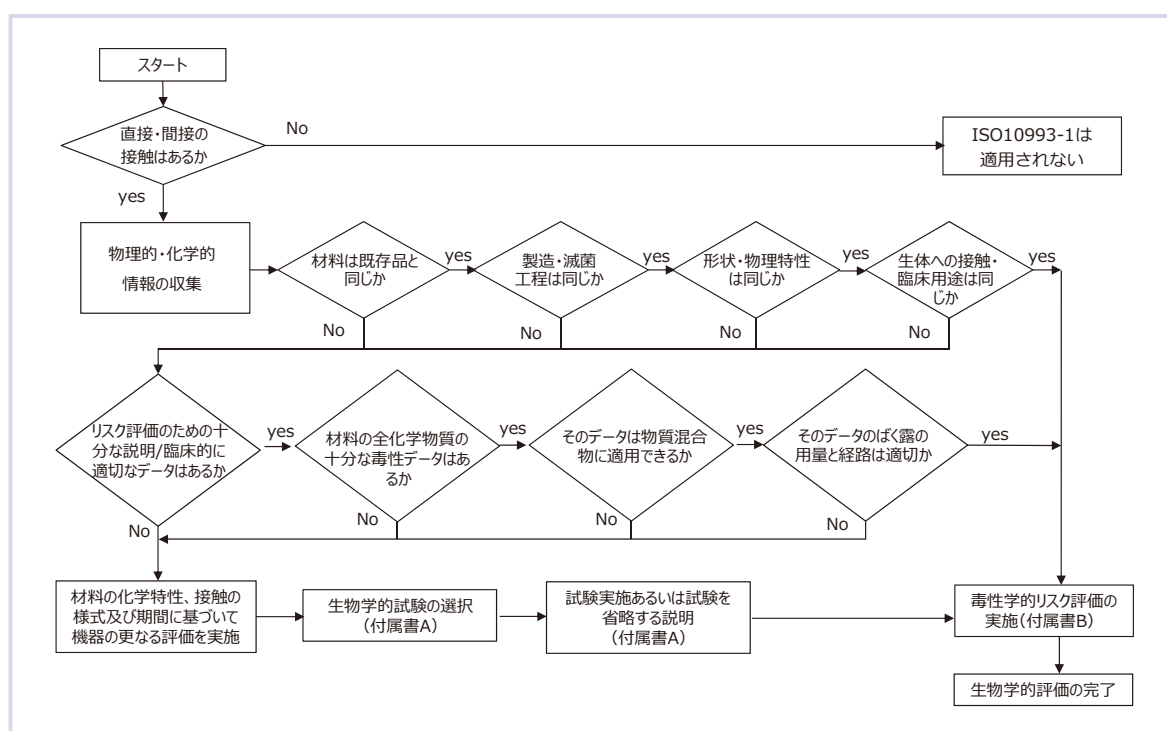


図1 ISO10993-1:2018におけるアプローチフロー

1.2 ケミカルキャラクタリゼーションの概要

機器に由来する化学物質情報を収集するための手段を指すケミカルキャラクタリゼーションはISO10993-18³⁾に示されている。しかし、これだけでは機器の生体適合性を評価できないため、収集された化学物質の毒性学的リスクをISO10993-17⁴⁾を参照して評価することで、はじめて生体適合性評価として機能する。具体的には、生物試験が抽出物に対して生体が反応するかどうかで評価するのに対し、ケミカルキャラクタリゼーションと毒性学的リスク評価は、抽出液に含まれる成分の種・量を化学分析で求める。そのうえで文献情報などを用いて推定検出成分毎に設定した閾値（ばく露許容値）との比較により、機器の安全性を評価する。これらの情報は、臨床的に安全性が確立された既存機器との生物学的同等性の論拠等に利用される。

2 ケミカルキャラクタリゼーションの進め方 (ISO10993-18)

2.1 手順

ケミカルキャラクタリゼーションは、①組成プロファイル取得、②Extractables（抽出物）プロファイル取得、③Leachables（浸出物）プロファイル取得の3つのステップに大きく分けられる。

①組成プロファイル取得では機器を構成する原材料情報を収集して既存機器と比較し、②Extractables および③Leachables（以降E&L）プロファイルの追加取得や毒性学的リスク評価の必要性を検討する。ただし原材料に含まれる添加剤や工程上の残留物を含めた情報を供給メーカー等から漏れなく入手することは通常難しい。また、機器に含まれる含有量で毒性学的リスク評価を行うことは、実際の使用条件からの乖離が大きく現実的ではない場合がある。これらのことから、機器使用時に機器から生体へ移行する可能性がある化学物質を化学分析により調査するE&Lプロファイル取得が重要となる。

②Extractablesプロファイル取得では、一般的に機器に影響を及ぼさない程度に実際の使用条件よりも過酷な条件で抽出を行うことで、機器由来の化学物質が生体へ移行する際の最悪ケースでのExtractablesプロファイルを得る。

③Leachablesプロファイル取得では、一般的に臨床使用条件を模擬した条件で抽出を行い、臨床使用時に機器から生体へ移行し得るLeachablesプロファイルを得る。

E&Lプロファイル取得は必ずしも両方を実施する必要はなく、一例として、Extractablesに対して毒性学的リスク評価を行った結果、リスクが受容できると判断されれば、そこでケミカルキャラ

クタリゼーションを終了することができる。一方、もしリスクが受容できない場合はLeachablesを特定して、実際の浸出物量での毒性学的リスク評価の必要が生じる。E&L評価では、いずれのステップにおいても分析評価閾値（AET）と呼ばれる化学分析上の基準濃度を評価対象機器毎に予め設定した上で、適切な抽出および分析を行う必要がある。

2.2 AET 設定

E&L評価の最大の目的は、評価機器由来のE&Lの成分およびその量を決定し、毒性学的リスク評価を可能にすることにある。E&Lとして機器より放出される化学物質は、その特性によって揮発性有機物質（VOC）、半揮発性有機物質（SVOC）、不揮発性有機物質（NVOC）および無機物質（IC）の4種類に分類される。医療機器には様々な高分子材料、有機性の添加剤や有機溶剤が含まれており、機器より放出される有機化合物を網羅的に解析できる手法が必要となる。不明な有機化合物に対するノンターゲット分析手法としてはガスクロマトグラフィー（GC）および高速液体クロマトグラフィー（HPLC）といった、クロマト分析が一般的である。これらの手法は多数の有機化合物を一斉分析できる有用な分析手法であるが、ノンターゲット分析において検出される大小全ての不明ピークを定量・定性解析し、毒性学的リスク評価を行うことは非常に煩雑であって、現実的ではない。そこで検出ピークの中から、検出濃度によって毒性学的リスクが懸念されないと判断し得るピークを“足切り”し、解析対象ピークのターゲティングを行うための基準として、AETの概念がISO10993-18において説明されている。これは毒性学上の閾値であるTTC（ $\mu\text{g/day}$ ）を分析上の濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）へ変換したもので、機器の生体への接触時間や評価エンドポイントに応じて選択したTTCと抽出分析における液量や供試面積（または個数）、臨床使用時の接触面積（または個数）等のファクターを式（図2）に当てはめることで算出される。このAETを基準

[算出式]

$$AET = \frac{DBT \times \frac{A}{BC}}{UF} \quad \text{※AET単位: } \mu\text{g/mL}$$

A 抽出した機器の数
B 抽出液の体積 (mL)
C 臨床使用時にばく露される、機器の数 (1日当たり)
DBT TTC等、投与量に基づいた閾値 ($\mu\text{g/day}$)
UF 不確実係数

図2 AET算出式 (ISO10993-18:2020参照)

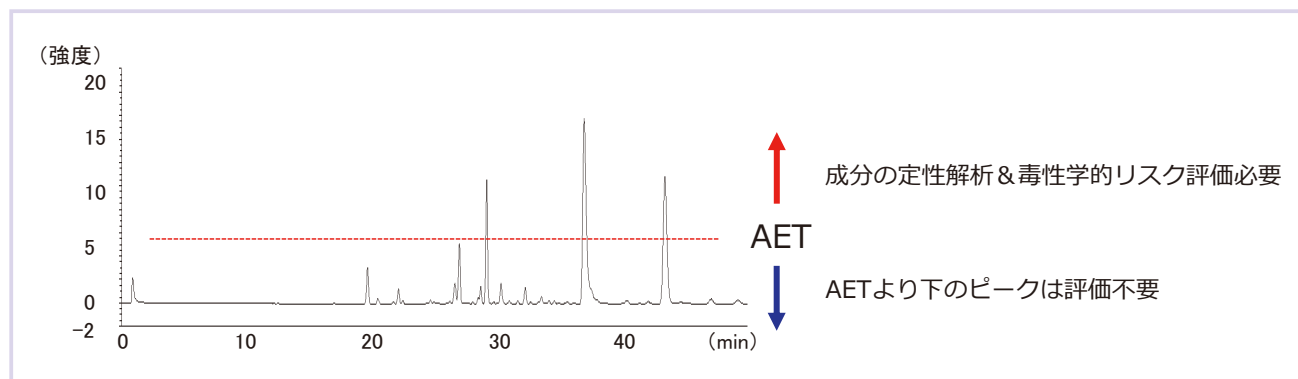


図3 AETを基準とした解析対象成分のターゲッティングイメージ

として、測定で得られる検出ピークをスクリーニングすることで、リスクが懸念される成分ピークのターゲッティングが可能となる（図3）。

TTCはあらゆる化学物質について、それ以下のばく露量では明らかな有害影響が現れないとされるヒトばく露の閾値として、医薬品中の不純物や食品包装材料の規制で利用されてきた概念である。TTCは発がん性が最も感受性の高い毒性エンドポイントであるという仮定に基づき、発がん性化合物のデータベースから得られるTD₅₀からの直線外挿により算出したVSDの分布を解析することで導き出される。遺伝毒性に基づく発がん性に関して発がんリスクが10⁻⁵となる用量として、1.5μg/dayが提唱されている。一方で非発がん作用（全身性影響）に対するTTCは、化学物質の構造に基づいて分類・設定されている。医療機器の生物学的安全性評価におけるTTC利用はISO/TS21726⁵⁾にて示されており、不明な成分に対するノンターゲット分析を主とするケミカルキャラクタリゼーションにおいて、化学分析の実施を現実的なものにする有効な概念である。ただし、TTCが適用できない“Cohort of concern”といった物質群（アフラトキシン様物質、N-ニトロソ化合物などの強い変異原性発がん物質群）等の存在や、TTCでは評価しにくいエンドポイント（例えば局所影響等）があることも考慮した上で、ケミカルキャラクタリゼーションと毒性学的リスク評価で評価するエンドポイントを検討する必要がある。

2.3 抽出条件選択

一般的にExtractablesプロファイル取得では、機器の生体への接触期間に応じて、適切な抽出条件が検討される（表1）。模擬使用抽出は、臨床使用条件を模擬した抽出条件であり、誇張抽出は臨床使用より温度、時間、溶媒の極性等、溶出に関わるファクターのいずれかひとつ、もしくは複数を誇張し、臨床使用よりも

過度に物質を抽出することを目的として選択する。総量抽出は、文字通り物質が抽出され尽くされるまで抽出を繰り返すことで、機器から放出される物質の総量を求める抽出である。Leachablesプロファイル取得では、模擬使用抽出もしくは加速抽出が検討される。加速抽出は模擬使用抽出条件において温度を高くし、より早い速度で物質の抽出を促す抽出方法である。これら抽出条件の選択は、機器に対する毒性学的リスク評価ロジックを含め、あらゆる角度から検討するべきである。

表1 Extractables評価において選択される抽出条件 (ISO10993-18:2020参照)

接触カテゴリ	推奨抽出条件／代替条件
一時的接触機器	模擬使用抽出／誇張抽出
短・中期的接触機器	総量抽出／誇張抽出
長期的接触機器	総量抽出／誇張抽出

2.4 分析手法選択

抽出液のE&L分析では、物質の特性に応じて分析手法を選択する必要がある。ISO10993-18には多くの手法が例示されている（表2）。特にノンターゲット分析を行う場合、選択性が低く網羅的に検出可能であり化学物質の性質によらず応答性が安定している検出器と、成分の定性解析に有用な質量分析計を併用することが望ましい。また用いる質量分析計については、不明成分の定性精度を向上させるため、化学物質の精密質量および構造情報が得られる高分解能タンデム質量分析計（MS/MS）等を用いることが望ましい。

2.5 化学分析結果の活用 (ISO10993-17)

E&L分析では、AETを超過した成分の（半）定量値（μg/device等）、検出成分に関する情報（CAS No., 組成式、推定

表2 E&Lの化学種に応じた分析手法の選択例 (ISO10993-18:2020参照)

E&L の特性		手法例	定性	定量
揮発性有機物質 (VOC)		HS-GC (FID, MS) , GC (FID, MS)	○	○
		TOC	-	○
半揮発性有機物質 (SVOC)		HS-GC (FID, MS) , GC (FID, MS)	○	○
		HPLC (UV, CAD, ELSD, MS)	○	○
		TOC	-	○
		NMR	○	○
不揮発性有機物質 (NVOC)		HPLC (UV, CAD, ELSD, MS)	○	○
		NMR	○	○
		TOC	-	○
		Non-volatile residue	-	○
無機物質 (IC)	イオン成分	IC	○	○
	金属元素	ICP-AES, ICP-MS	○	○

化学構造)等が得られる。これら情報を元に検出物質の毒性学的リスク評価を実施し、製品としての生物学的安全性を評価する。一般的に毒性学的リスク評価では、化学物質のCAS No.より、規制当局等の信頼できるデータベースを調査し、過去の試験結果からNOAEL / NOEL、吸収率といった情報を収集し、種差や投与経路の違いといった様々なファクターを考慮して、物質毎にTI等の許容値を設定する。E&L分析で得られたAET超過成分の検出量から算出した推定ばく露量と許容値との比較により、化学物質が生体に与えるリスクの有無を評価する。毒性学的リスク評価はエキスパートにより実施されることが重要である。

3 おわりに

医療機器の生物学的安全性評価においては、ケミカルキャラクタリゼーション、代替試験法および生物試験等の各手法の長所・短所を理解した上で、ISO10993-1のアプローチフローに従って評価していくことが重要である。さらに動物福祉の観点からもケミカルキャラクタリゼーションを活用した毒性学的リスク評価の必要性は今後増していくものと思われる。しかしその一方で、標準化された手法・判断基準に基づいて行われる生物試験と比較して、ケミカルキャラクタリゼーションに基づいた安全性評価はいまだ確立された方法論が存在する訳ではない。そのため、個々の製品毎に評価ロジック検討と適切な分析手法選択が求められることから、例えば医薬品医療機器総合機構(PMDA)は化学分析を主体とした生物学的安全性評価により製品の承認申請を受ける場合は、評価手法に関する事前相談の実施を推奨している。当社ではケミカルキャラクタリゼーションおよび毒性リスク評価を含む生物学的安全性試験やPMDA 対面助言・事前面談サポート等の申請支援サービスを幅広く展開している。これらを駆使して、

ケミカルキャラクタリゼーション技術の向上と国内における医療機器産業の発展に貢献していきたい。

<本文中の略語>

- ・ AET: Analytical Evaluation Threshold 分析評価閾値
- ・ IC: Inorganic Compounds 無機物質
- ・ NOAEL: No Observable Adverse Effect Level 無有害作用量
- ・ NOEL: No Observable Effect Level 無影響量
- ・ NVOC: Non-Volatile Organic Compounds 不揮発性有機物質
- ・ SVOC: Semi-Volatile Organic Compounds 半揮発性有機物質
- ・ TD₅₀: 50% Toxic Dose 50%発がん用量
- ・ TI: Tolerable Intake 耐容摂取量
- ・ TTC: Threshold of Toxicological Concern 毒性学的懸念の閾値
- ・ VOC: Volatile Organic Compounds 揮発性有機物質
- ・ VSD: Virtually Safety Dose 実質安全量

文 献

- 1) ISO 10993-1: "Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management process", (2018).
- 2) 薬生機審発0106第1号: "医療機器の製造販売承認申請等に必要医療機器の生物学的安全性評価の考え方についての改正について", (令和2年1月6日).
- 3) ISO 10993-18: "Biological evaluation of medical devices – Part 18: Chemical characterization of medical device materials within a risk management process", (2020).
- 4) ISO 10993-17: "Biological evaluation of medical devices – Part 17: Establishment of allowable limits for leachable substances", (2002).
- 5) ISO / TS 21726: "Biological evaluation of medical devices – Application of the threshold of toxicological concern (TTC) for assessing biocompatibility of medical device constituents", (2019).



福永 辰也
(ふくなが たつや)
千葉ラボラトリー