

平成24年度課題解決型医療機器等開発事業

「界面制御CNTコンポジット材料を用いた高機能人工関節の安全性の開発」

研究成果報告書（要約版）

平成25年 2月

委託者 経済産業省

委託先 公益財団法人 長野県テクノ財団

目次

第1章	研究開発の概要	
1-1	研究開発の背景・研究目的及び目標	
	研究開発の背景	p3
	研究開発の目的及び目標	p3
1-2	研究体制	
	研究組織及び管理体制	p3
	管理員及び研究員	p6
	経理担当者及び業務管理者の所属、氏名	p8
	その他	p9
1-3	成果概要	p10
1-4	当該研究開発の連絡窓口	p12
第2章	本論	
	①ナノカーボン複合材料の安全確認試験	p13
	②臨床試験準備	p17
	③プロジェクトの管理・運営（長野県テクノ財団）	p21
最終章	全体総括	p22

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

1) 研究の目的

高齢化社会の到来と共に、変形性関節症患者は近年飛躍的に増加している。それに伴い人工関節の症例数も大幅な伸びを示している。失われた活動性を取り戻す為に、股関節や膝関節に人工関節置換術を行う患者数が急増している。この手術により再度歩行が可能となり、社会復帰などが実現している。この人工関節は、ソケットをプラスチック(ポリエチレン)、金属、セラミックスで構成され、ヘッドをセラミックス、金属で製造され、この部分が滑る事で関節の機能を果たしている。しかし長期使用により人工関節が破綻する症例が20年成績で10~20%あり、人工関節を再度入れ替え、人工関節の機能を回復させる再置換手術が急増していることも事実である。この問題の解決のため、患者が一生に一度の手術で社会復帰出来る様に Carbon Nanotube を用いた高耐久性ポリエチレン、セラミックスを実現し人工関節の長寿命化の開発を行ってきた。しかし Carbon Nanotube は国内において全くの新規素材であるため、薬事承認などでの安全性審査において膨大な生体安全性データなどが要求され、患者への適用が遅々として進まないのが現状である。

本研究開発では薬事承認のための有効性及び安全性エビデンスを構築し、承認申請についての課題を解決するため、以下の2点の実施を目的とする。

1) ナノカーボン複合材料の人工関節に関する有効性、安全性確認試験

- ・計画記載のGLP試験(磨耗粉に係るものを含む)を終了すること。
- ・治験・承認申請に必要な試験を終了すること。

2) 臨床試験準備

- ・薬事相談の実施として、PMDA 審査部に対して開発前相談を実施し治験に向けた道筋をつけること。
- ・新規素材の生物学的安全性試験のプロトコルを策定すること。

2) 研究の概要

本研究はこれまでに材料特性開発に関しては目処が立ちつつあり、また最重要課題である基本的な安全性に係る研究に関してもほぼ安全であることをラボレベルで実証している。さらに従来材料に対しての優位性(耐衝撃性、弾性率向上の相反する条件の両立)、生物学的安全性に関して積極的な論文発表、学会発表を進めているところである。

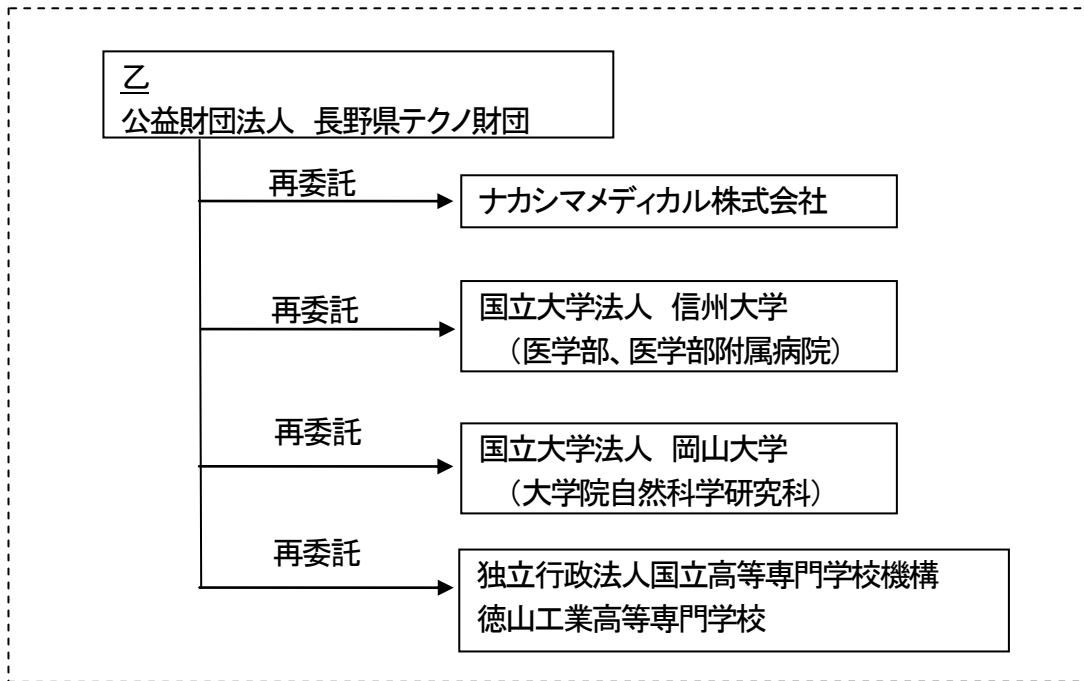
本年度の開発においては、薬事承認申請を前提としたデータパッケージの整理(GLP/Good Laboratory Practice: 日本では薬事法による新医薬品等の開発のために行われる非臨床試験(動物試験等、特に安全性試験)のデータの信頼性を確保するための実施基準)、各種規格に沿った機械的特性の評価を実施する。

これらの試験を基に、今後臨床に向けた開発を進め、最終的には1)研究の目的に示した性能を有する製品を平成29年度に実用化する事を目標とする。

1-2 研究体制

(1) 研究組織及び管理体制

1) 研究組織(全体)



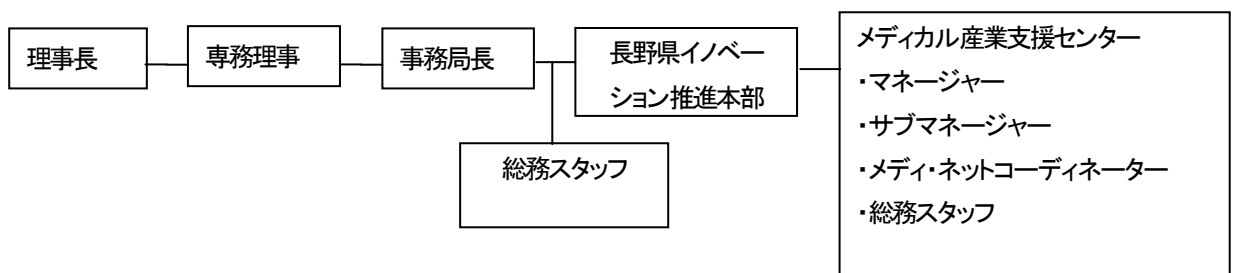
総括研究代表者 (PL)
 所属 ナカシマメディカル株式会社
 役職 代表取締役社長
 氏名 中島 義雄

副総括研究代表者 (SL)
 所属 信州大学医学部
 役職 教授
 氏名 齋藤 直人

2) 管理体制

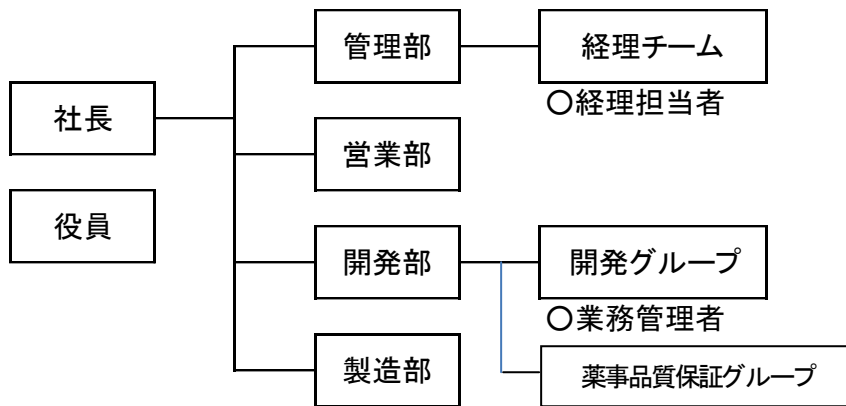
①事業管理機関

[公益財団法人 長野県テクノ財団]

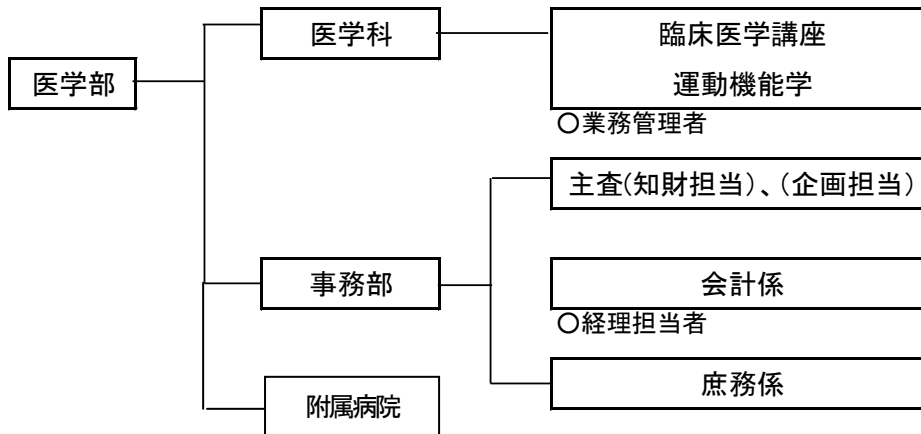


○業務管理者 ○経理担当者

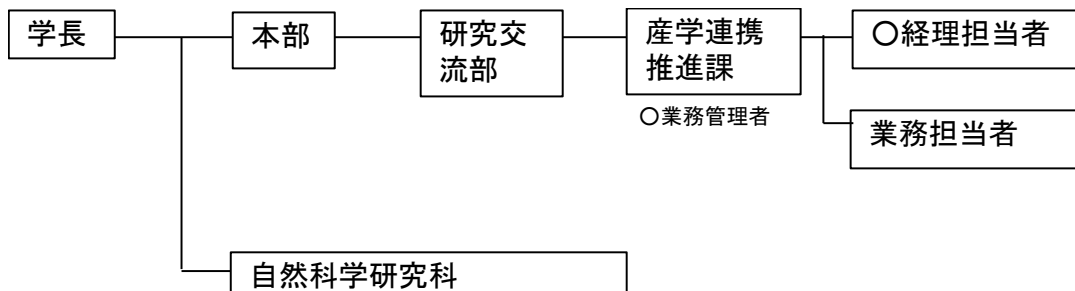
② (再委託先)
ナカシマメディカル株式会社

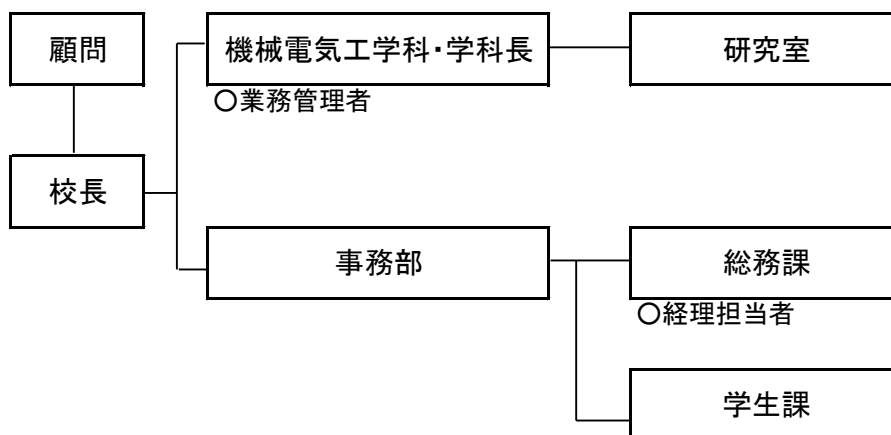


国立大学法人 信州大学



国立大学法人 岡山大学





(2) 管理員及び研究員

【事業管理機関】公益財団法人長野県テクノ財団

①管理員

氏名	所属・役職	実施内容 (番号)
岡本 則久	メディカル産業支援センターマネージャー	③
藤澤 貞行	長野県イノベーション推進本部事務局次長	③
三浦 明美	メディカル産業支援センターサブマネージャー	③
塚越 憲二	メディカル産業支援センターメディ・ネット コーディネーター	③
松本 美佳	メディカル産業支援センター総務スタッフ	③

②研究員

氏名	所属・役職	実施内容 (番号)
由佐 史江	メディカル産業支援センターメディ・ネット コーディネーター	①

【再委託先】

ナカシマメディカル株式会社

氏名	所属・役職	実施内容(番号)
西村 直之	開発部 開発グループ 課長	①、②
赤木 雅道	開発部 薬事品質保証グループ 係員	①
杉本 智広	開発部 開発グループ 係員	①、②
綱嶋 義貴	開発部 開発グループ 係員	①、②
原田 賢二	開発部 開発グループ 係員	①、②

国立大学法人 信州大学

氏名	所属・役職	実施内容(番号)
齋藤 直人	医学部保健学科 教授	①、②
薄井 雄企	エキゾチック・ナノカーボンの創成と応用プロジェクト拠点 准教授	①、②
天正 恵治	医学部運動機能学講座 助教	①、②
羽二生 久夫	医学部運動機能学講座 助教	①、②
青木 薫	医学部附属病院整形外科 診療助教	①、②
高梨 誠司	医学部附属病院整形外科 医員	①、②
岡本 正則	医学部附属病院整形外科 医員	①、②
小林 伸輔	医学部附属病院整形外科 医員	① ②

国立大学法人 岡山大学

氏名	所属・役職	実施内容(番号)
岸本 昭	大学院自然科学研究科 教授	①
林 秀考	大学院自然科学研究科 准教授	①

独立行政法人国立高等専門学校機構 徳山工業高等専門学校

氏名	所属・役職	実施内容(番号)
櫻本 逸男	機械電気工学科 教授 学科主任	①

(3) 経理担当者及び業務管理者の所属、氏名

(事業管理機関)

公益財団法人 長野県テクノ財団

(経理担当者)	メディカル産業支援センター総務スタッフ	松本 美佳
(業務管理者)	メディカル産業支援センターマネージャー	岡本 則久

(再委託先)

ナカシマメディカル株式会社

(経理担当者)	管理部長	岡田 稔
(業務管理者)	開発部 開発グループ 課長	西村 直之

国立大学法人 信州大学

(経理担当者)	財務部 経理調達課長	北林 俊和
(業務管理者)	医学部保健学科 教授	齋藤 直人

国立大学法人 岡山大学

(経理担当者)	研究交流部 産学連携推進課 共同(受託) 研究推進グループ主査	辛嶋 克己
(業務管理者)	研究交流部 産学連携推進課 共同(受託) 研究推進グループ課長	林 崇史

独立行政法人国立高等専門学校機構 徳山工業高等専門学校

(経理担当者)	総務課会計係長	岸本 篤信
(業務管理者)	機械電気工学科 教授 学科主任	櫻本 逸男

(4) その他

① 研究開発推進委員会

ア) 委員

氏名	所属・役職	備考
岡本 則久 藤澤 貞行 三浦 明美 由佐 史江	公益財団法人 長野県テクノ財団 メディカル産業支援センターマネージャー 長野県イノベーション推進本部事務局次長 メディカル産業支援センターサブマネージャー メディカル産業支援センターメディ・ネット コーディネーター	業務管理者
塚越 憲二 松本 美佳	メディカル産業支援センターメディ・ネット コーディネーター メディカル産業支援センター総務スタッフ	経理担当者
中島 義雄 西村 直之 赤木 雅道 杉本 智広 綱嶋 義貴 原田 賢二	ナカシマメディカル株式会社 常務取締役 開発部 開発グループ 課長 開発部 薬事品質保証グループ 係員 開発部 開発グループ 係員 開発部 開発グループ 係員 開発部 開発グループ 係員	P L
齋藤 直人 薄井 雄企 天正 恵治 羽二生 久夫 青木 薫 高梨 誠司 岡本 正則 小林 伸輔	国立大学法人 信州大学 医学部保健学科 教授 エキゾチック・ナノカーボンの創成と応用プロジェ クト拠点准教授 医学部運動機能学講座 助教 医学部運動機能学講座 助教 医学部附属病院整形外科 診療助教 医学部附属病院整形外科 医員 医学部附属病院整形外科 医員 医学部附属病院整形外科 医員	S L
岸本 昭 林 秀考	国立大学法人 岡山大学 大学院自然科学研究科 教授 大学院自然科学研究科 准教授	
櫻本 逸男	独立行政法人国立高等専門学校機構 徳山工業高等専門学 校 機械電気工学科 教授 学科主任	

イ) アドバイザー

- 1) 旭化成ケミカルズ株式会社 樹脂総合研究所基盤技術開発部 主席研究員 永田 員也
- 2) 大明化学工業株式会社 常務取締役 企画部長 勝岡 求仁
- 3) MEFS 株式会社 研究員 福世 知行
- 4) 国立大学法人信州大学 カーボン科学研究所 名誉所長特別特任教授 遠藤 守信
- 5) 長野県工業技術総合センター 材料化学部長 三沢 雅芳
- 6) 岡山県工業技術センター 研究員 浦部 匡史

1-3 成果概要

成果概要一覧を表 1 に示す。

表 1 成果概要一覧

項目		実施状況	備考
①ナノカーボン複合材料の安全確認試験			
①-1 ナノカーボンポリエチレン部材の有効性・安全性検討			
1) 引張り強度試験の実施	ナカシマメディカル株式会社、 徳山工業高等専門学校	達成	
2) 溶出物試験／残ガス試験の実施	ナカシマメディカル株式会社	未達成	実施中
3) ナノカーボンポリエチレン部材の安全確認試験結果の薬事申請への適用	ナカシマメディカル株式会社	一部達成	2)の成果による
①-2 ナノカーボンポリエチレンのGLP試験による有効性・安全性検討			
1) 全身毒性試験の実施	ナカシマメディカル株式会社、 長野県テクノ財団、信州大学	達成	
2) 摩耗粉に係る評価の実施	信州大学	達成	
3) ナノカーボンポリエチレンのGLP試験結果の適用	ナカシマメディカル株式会社	達成	
①-3 ナノカーボンアルミナ部材の有効性・安全性検討			
1) 各種機械試験の実施	ナカシマメディカル株式会社、 岡山大学	未達成	実施中
2) 残ガス試験の実施	ナカシマメディカル株式会社	未達成	実施中
3) ナノカーボンアルミナ部材の安全確認試験結果の適用()	ナカシマメディカル株式会社	未達成	実施中
①-4 ナノカーボンアルミナのGLP試験による有効性・安全性検討			
1) GLP試験の実施	ナカシマメディカル株式会社、 長野県テクノ財団、信州大学	達成	
①-5 知財に関するデータ取りまとめ及び知財権の確保			
1)知財に関するデータ取りまとめ	長野県テクノ財団	達成	
2)知財権の確保	ナカシマメディカル株式会社	達成	
②臨床試験準備			
②-1 薬事相談の実施	ナカシマメディカル株式会社	達成	
②-2 新規素材の生物学的安全性試験のprotocolsの策定	信州大学、ナカシマメディカル株式会社	達成	
③プロジェクトの管理・運営	長野県テクノ財団	達成	

①ナノカーボン複合材料の安全確認試験

①-1 ナノカーボンポリエチレン部材の有効性・安全性検討

1) 引張り強度試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社、徳山工業高等専門学校)

ナノカーボンポリエチレン複合材料に係る安全性・有効性評価を確認する為に、引張試験を中心とした各種機械特性試験を実施し、薬事承認用データパッケージを作成した。特にもっとも重要視される股関節シミュレータに関しては現在、実施中であり、次年度中での終了を目指している。

その他 GLP 試験に係る試験片を量産した。

2) 溶出物試験／残ガス試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社)

製品化に関して CNT-SN システムとしてナノカーボン複合ポリエチレン材料をまず、人工股関節ライナーとして申請を行い、その他部材に関しては既承認品を中心とした申請を予定している。現在溶出物試験、残ガス試験を実施中である。

3) ナノカーボンポリエチレン部材の安全確認試験結果の薬事申請への適用 (ナカシマメディカル株式会社)

ナノカーボンポリエチレン複合材料に関しては素材での有効性・安全性試験に関してはほぼ終了した。本件の資料をデータパッケージとして取り纏め、PMDA での開発前相談の添付資料として使用している。

現在はデバイスとしての評価試験を行っており、この資料を取り纏める事で次年度以降の薬事相談に適用する予定である。

①-2 ナノカーボンポリエチレンの GLP 試験による有効性・安全性検討

1) 全身毒性試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社、長野県テクノ財団、信州大学)

平成 24 年度 3 月に追加されたガイドラインに基づく GLP 試験を実施し、問題がない事を確認している。現在までに骨埋入試験(26 週)を除いて GLP 試験に関しては終了している。

2) 摩耗粉に係る評価の実施 (信州大学)

通常の試験条件下では摩耗粉を回収する事が困難である為に、特殊な条件下での摩耗粉の試作を実施している。細胞毒性では通常のポリエチレン材料と比較して問題がない事を確認している。

しかし PMDA との開発前相談では摩耗粉に関する遺伝毒性等を指摘されており、さらなる評価を求められている。この部分においては明確な試験プロトコルが無く、今後検討を要する課題である。

3) ナノカーボンポリエチレンの GLP 試験結果の適用 (ナカシマメディカル株式会社)

先述の通り PMDA において素材としての安全性・有効性に関しては開発前相談において適用した。

①-3 ナノカーボンアルミナ部材の有効性・安全性検討

1) 各種機械試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社、岡山大学)

新規に骨頭を製造する為に RIP 装置を導入し、製造プロセスの立ち上げを行った。この装置により GLP 試験片の量産を実施した。

製造プロセスの変更により素材での破壊靱性値等の機械物性を確認中である。

2) 残ガス試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社)

現在溶出物試験、残ガス試験を実施中である。

3) ナノカーボンアルミナ部材の安全確認試験結果の適用(ナカシマメディカル株式会社)

本年度導入を行った RIP 装置を用いた製造プロセスに基づく GLP 試験片を作製し、試験に供した。安全性に関しては特に問題は無い事を確認している。但し、薬事承認の迅速な対応、製品の早急な上市を目的に素材のデータパッケージの取り纏めまでで終了している。

①-4 ナノカーボンアルミナのGLP試験による有効性・安全性検討

1) GLP試験の実施（ナカシマメディカル株式会社、長野県テクノ財団、信州大学）

平成24年度3月に追加されたガイドラインに基づくGLP試験を実施し、問題がない事を確認している。現在までに骨埋入試験(26週)を除いてGLP試験に関しては終了している。

①-5 知財に関するデータ取りまとめ及び知財権の確保

1) 知財に関するデータ取りまとめ（長野県テクノ財団）

弁理士を通じて知財に関する調査を実施し伴走コンサルタントの指摘を踏まえ、既存の知財に対して有効性を持つ知財の創出に関してのデータ取り纏め、差別化する為の開発要件の取りまとめを実施した。

2) 知財権の確保（ナカシマメディカル株式会社）

①-1 で示した開発に基づく検討結果を用い知財申請に資するデータとしても活用し、本年度ナノカーボンポリチレン複合材料の構造に関する知財を1件申請した。

①-3 で示した開発に基づく検討結果を用い知財申請に資するデータとしても活用し、本年度ナノカーボンアルミナ複合材料の製造に関する知財を1件申請した。但し伴走コンサルタントからの指摘における構造に関する知財は、今年度作成が間に合わなかった為に次年度において申請する予定である。

②臨床試験準備

②-1 薬事相談の実施（ナカシマメディカル株式会社）

薬事相談に関してはナカシマメディカル株薬事グループが中心となり、PMDAへの事前のすり合わせを含め、開発前相談を実施した。

②-2 新規素材の生物学的安全性試験のprotocolsの策定（信州大学、ナカシマメディカル株式会社）

③プロジェクトの管理・運営（長野県テクノ財団）

1-4 当該研究開発の連絡窓口

対外的な問い合わせの担当者

ナカシマメディカル株式会社 開発部 開発グループ 課長 西村 直之

TEL 086-286-9200

FAX 086-286-9201

E-mail : n-nishimura@nakashima.co.jp

第2章 本論

①ナノカーボン複合材料の安全確認試験

高寿命人工股関節部材として人工股関節ポリエチレンライナーとして使用するナノカーボン複合ポリエチレン及びセラミックスヘッドとして使用するナノカーボン複合アルミナ材料の生物学的な安全性試験を実施するものである。

①-1 ナノカーボンポリエチレン部材の有効性・安全性検討

実施した評価試験一覧を表 2に示す。概要としてガイドラインに示される GLP 試験に関してはほぼ終了し、素材としての安全性に関しては確認できているという認識である。現在は主としてデバイス評価を実施している段階である。以下に各項目に関して報告する。

表 2 ナノカーボンポリエチレン複合材料評価試験一覧

試験名	試験の詳細	実施	申請書への添付
細胞毒性試験	GLP	済	概要4.2.1.5
感作性試験	GLP	済	概要4.2.1.5
復帰突然変異試験	GLP	済	概要4.2.1.5
染色体異常試験	GLP	済	概要4.2.1.5
筋肉内埋植試験	GLP:埋植期間:1,4週	済	概要4.2.1.5
骨内埋植試験	GLP:埋植期間:4,12,26週(26週は次年度)	済	概要4.2.1.5
皮内反応試験	GLP	済	
全身急性毒性試験	GLP	済	
全身慢性毒性試験	GLP	済	
摩耗粉の細胞毒性試験	培養細胞実験	済	
摩耗粉の遺伝毒性試験	培養細胞実験	済	
MRIIによる発熱試験		済	
ピンオンプレートによる摺動試験	アルミナ製のピンを用いた摩耗評価試験	済	
圧縮成形後の断面観察評価	電子顕微鏡によりナノカーボンが均一に分散していることを確認する	済	概要4.2.1.1
引張強度試験	原材料の引張強度試験による比較	済	概要4.2.1.1
弾性率評価	原材料の弾性率の比較	済	概要4.2.1.1
衝撃試験	XLPEとの比較	済	概要4.2.1.1
シミュレータを用いた摩耗評価試験	人工股関節シミュレータを用いて摩耗量の評価を行う(骨頭はセラミック?)	実施中	
滅菌バリデーション	EOG滅菌後、無菌試験にて確認する。	実施中	
残留EOG濃度試験	EOG滅菌後、EOGの残留濃度を測定する。	実施中	概要4.2.2

2) 溶出物試験/残ガス試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社)

溶出物試験、残ガス試験においてはワーストケースを選定し、試験を実施中である。

3) ナノカーボンポリエチレン部材の安全確認試験結果の薬事申請への適用 (ナカシマメディカル株式会社)

現在、1)に関してはデータパッケージを整備し、薬事相談への適用を終了している。2)においてはデバイスに係る評価の1部であり現在実施中である。試験終了次第データパッケージとして整備する予定である。

①-2 ナノカーボンポリエチレンのGLP試験による有効性・安全性検討

1) 全身毒性試験の実施 (ナカシマメディカル株式会社、長野県テクノ財団、信州大学)

昨年に引き続き、ナノカーボンポリエチレン複合材料に係る GLP 試験を実施した。表 4 にガイドラインに示される毒性試験一覧を示す。平成 24 年 3 月にガイドラインの改正が行われた関係で試験の追加が発生した。今年度はその追加分を実施した (表中、白枠部分)。骨埋植試験 (26 週) は次年度実施の予定である。

表 3 ガイドラインに示される毒性試験一覧

分類		試験名								
体内埋込機器	組織/骨 長期的接触	細胞毒性	感作性	刺激性/皮内反応	急性全身毒性	亜急性毒性	遺伝毒性	発熱性	埋植試験	血液適合性
薬食機発0301第20号 平成24年3月1日	○	○	○	○	○	○	○		○	

表 4 実施したナノカーボンアルミナの GLP 試験一覧 (白抜き部分が本年度実施)

試験番号	試験項目
昨年度実施	培養細胞を用いる 細胞毒性試験
昨年度実施	モルモットを用いる感作性試験 (生理食塩液抽出)
昨年度実施	細菌を用いる 復帰突然変異試験
昨年度実施	培養細胞を用いる 染色体異常試験
昨年度実施	ウサギを用いる 骨内埋植試験
本年度実施	ラットを用いる 亜急性毒性試験
本年度実施	ラットを用いる 亜慢性毒性試験

2) 摩耗粉に係る評価の実施 (信州大学)

(1) 細胞毒性試験1 : コロニー法による CNT コンポジット材由来摩耗粉の細胞毒性評価

実際に人工関節の摺動部材として CNT のコンポジット材を利用する場合、経過中に摩耗がおき、摩耗粉が生じることが考えられる。そのため、CNT 単体及び、コンポジット材の摩耗粉に関しても生体安全性を評価する必要がある。これまでに、ポリエチレン(PE) と CNT のコンポジットにおける摩耗粉を人工的に作製し、安全性試験を行い報告している。V79 細胞 (チャイニーズハムスター肺由来 fibroblast) を使用して行ったコロニー法による細胞毒性試験では、PE+CNT の摩耗粉は PE の摩耗粉と比較して、細胞毒性が有意に低く、PE+CNT の摩耗粉は生体に安全である可能性が示唆された。

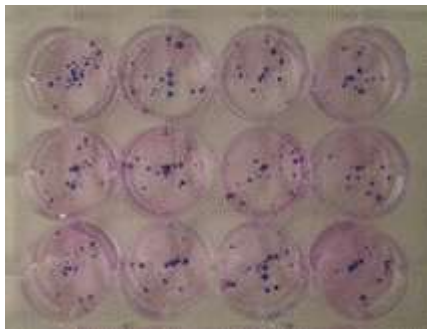


図 1 コロニー法による細胞毒性試験

摩耗粉の細胞毒性試験(コロニー法)

試験試料の溶液を播種した細胞に接触させて 細胞毒性を確認する

- 細胞株 : V79 細胞
- 培地 : M05 培地
- 接触期間 : 6 日間
- n=3
- 粒子数 : 150000/ml

PE と PE+CNT の粒子数をそろえて実験を行った。

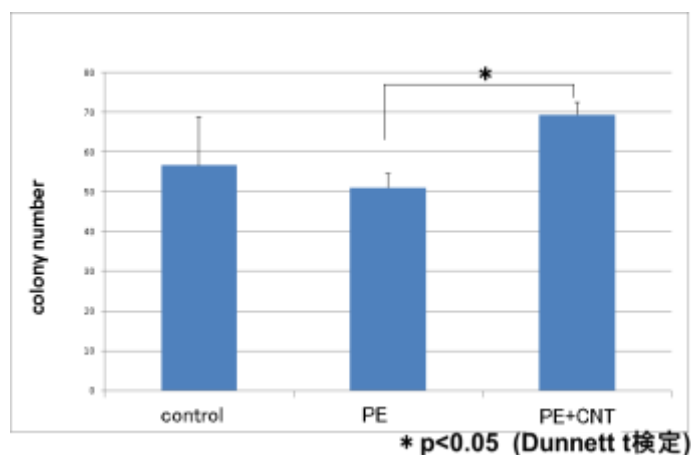


図 2 摩耗粉による細胞毒性試験の結果

ポリエチレンと CNT のコンポジット(PE+CNT)からの摩耗粉は、ポリエチレン単体(PE)からの摩耗粉と比べて細胞毒性が有意に低く、コントロールと比べても低い傾向を認めた。その他、細胞毒性試験2 : CNT や摩耗粉など、溶液に均一分散しない物質の細胞毒性を定量的に評価する方法の開発を実施した。

①-3 ナノカーボンアルミナ部材の有効性・安全性検討

実施した評価試験一覧を表 5に示す。概要としてガイドラインに示される GLP 試験に関してはほぼ終了し、素材としての安全性に関しては確認出来ていると言う認識である。現在は主としてデバイス評価を実施する為に製造試験を行っている。以下に各項目に関して報告する。

表 5. ナノカーボンアルミナ部材の有効性・安全性評価一覧

試験名	試験の詳細	実施	申請書への添付
細胞毒性試験	GLP	済	概要4.2.1.5
感作性試験	GLP	済	概要4.2.1.5
復帰突然変異試験	GLP	済	概要4.2.1.5
染色体異常試験	GLP	済	概要4.2.1.5
骨内埋植試験	GLP:埋植期間:4,12,26週(26週は次年度)	済	概要4.2.1.5
全身亜急性毒性試験	GLP	済	
全身亜慢性毒性試験	GLP	済	
部材の強度試験	JIS R1607準抛試験	実施中	
部材の破壊靱性試験	JIS R1607準抛試験	実施中	

表 6 実施したナノカーボンアルミナのGLP 試験一覧

試験番号	試験項目
本年度実施	培養細胞を用いる 細胞毒性試験
本年度実施	モルモットを用いる感作性試験 (生理食塩液抽出)
本年度実施	細菌を用いる 復帰突然変異試験
本年度実施	培養細胞を用いる 染色体異常試験
本年度実施	ウサギを用いる 骨内埋植試験
本年度実施	ラットを用いる 亜急性毒性試験
本年度実施	ラットを用いる 亜慢性毒性試験

①-5 知財に関するデータ取りまとめ及び知財権の確保

1) 知財に関するデータ取りまとめ (長野県テクノ財団)

これまでに 5 件の知財を出願している (プロジェクト以前 2 件 (基本的な知財: 材料には直結していない) 平成 22 年度補正 3 件)。同時に弁理士事務所を通じて知財調査を行っており現在パテントマップを作成している。

②臨床試験準備

②-1 薬事相談の実施 (ナカシマメディカル株式会社)

本年度 開発前相談を実施した。

CNT-SN システム概要

- ・CNT-UHMWPE カップ 申請対象品
- ・金属製カップ THA カップ 既承認品
- ・骨頭 既承認品
- ・金属製ステム 既承認品

②-2 新規素材の生物学的安全性試験のプロトコルの策定 (信州大学、ナカシマメディカル株式会社)

新素材としての安全性確保の為に以下の試験を実施した。

(1) ナノカーボンの生物学的安全性試験のプロトコル策定のための予備実験 1 : 遺伝子導入発癌性マウス (rasH2 マウス) を用いた、CNT 皮下埋植発癌試験

(2) ナノカーボンの生物学的安全性試験のプロトコル策定のための予備実験 2 : ナノカーボンの膝関節内での反応

またナノカーボンを生体材料に応用するための生物学的安全性試験のプロトコル策定を検討した。

国際規格 international standard

カーボンブラックといっても様々な種類があり、それぞれの生物学的安全性は少しずつ異なる。この中で CNTs の適切な reference になるのは、刺青に使用されているカーボンブラックと同等の、ナノサイズで純度の高いカーボンブラックである。現時点では、直径約 50nm、純度 99.5 %以上のカーボンブラックが適当と考えるが、多くの専門家の議論により、最適なカーボンブラックを決定するべきである。できるだけ早く、CNTs の reference となるカーボンブラックを、国際規格として公表することが重要である。

カーボンブラックを reference に用いる際に気を付けなければならないことは、CNTs の方がカーボンブラックより試験溶液に分散しにくいいため、分散剤 (一般的には界面活性剤) を正しく使用することである。CNTs が十分に溶液に分散する濃度の分散剤が、生体または細胞に大きな影響を及ぼさないことを確認し、reference であるカーボンブラックの溶液にもその分散剤を同様に使用すべきである。特に in vitro の試験の場合、時間経過とともに粒子が沈殿してくると、その沈殿速度によって細胞の反応が異なってくる。正確に reference と比較するためには、できるだけ粒子が沈殿してこない分散剤が望ましい。我々は現時

点では、分散剤として polyvinyl alcohol が最適であると考えている。しかし、分散性、毒性、取扱いやすさなどの点でさらに優れた分散剤がある可能性があり、やはり専門家の議論を十分に行い、国際規格の分散剤を定めるべきである。

評価方法

CNTs の毒性が reference であるカーボンブラックと同等またはそれ以下であれば、「生体材料として安全」と評価する。その試験はそれ以上行う必要がなく、判断をくだすことができる。カーボンブラックより毒性が強ければ、判断は保留になる。現時点では reference が一つしかないため、これ以上の評価は厳密には不可能である。しかし、毒性試験の結果がカーボンブラックより極端に悪い場合（例えば毒性を示す濃度が 1 ケタ小さい場合）は、要注意であろう。一方、CNTs もカーボンブラックも毒性が全くでなければ、本当に毒性がないのか、試験条件が適切でないでないかのどちらかである。これらの点に注意して、カーボンブラックを共通の reference として、CNTs の様々な安全性評価を積み重ねていくことを提案する。

残念ながら、in vivo の生体内動態評価には、カーボンブラックを reference として用いることはできない。ナノ粒子物質が組織から血流に移行するか、血流に乗った粒子が体内のどこに集積するかなどは、粒子の形状の影響が大きすぎるからである。カーボンブラックのような球状粒子は、CNTs のような繊維状粒子に比べて、組織と血管の間の移行が容易である。しかし、CNTs の生体内移動を調べるために reference を置く必要はない。もし試験の結果、CNTs がある臓器に集積することが明らかになったら、その局所での生体反応の評価には、カーボンブラックを reference として、CNTs の埋め込み試験を行えばよい。

CNTs を用いた生体材料の臨床応用の道筋

CNTs の臨床応用において重要なことは、最も安全な使用方法から開始することである。すなわち、CNTs の臨床応用は、安全性のステージによって段階を踏んで進んでいくべきである（表 10）。

最初の段階は、CNTs を複合材としてインプラントに使用する Stage 1 である。一般に複合材における CNTs の含有量は 10 wt% 以下であり、生体内に CNTs が粒子として露出することが全くないか、きわめて少ない。このため、CNT 固有の問題が人体に生じる可能性はないか、きわめて低い。われわれは、最初の CNTs の生体応用として、前述の MWCNTs と既存の生体材料の複合材を、人工関節に使用することを計画している。

表 7 CNTs を用いた生体材料の臨床応用の Stage

CNT の状態	使用部位	粒子の生体暴露	危険度	使用例	
Stage 1	複合体	局所	無/少	無/低	人工関節、脊椎固定機器
Stage 2	粒子	局所	中	低/中	癌治療の DDS やイメージング
Stage 3	粒子	局所	中	低/中	再生医療の足場材、局所の DDS
Stage 4	粒子	全身	多	高	血流にのる DDS やイメージング

CNTs の生体材料への臨床応用は、安全性のステージによって段階を踏んで進んでいく。Stage 4 への移行は注意を要する。

人工関節においては、MWCNT/ポリエチレン複合材と MWCNT/セラミックス複合材を開発している。人工関節の摺動部に用いられているポリエチレンは超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) であるが、長年使用して

いと摩耗して再手術が必要になる。このため現在クロスリンク UHMWPE が用いられるようになったが、今度は硬すぎて破壊しやすいという問題が生じている。MWCNT 複合 UHMWPE は、摩耗しにくく破壊しにくいという、従来達成しえなかった特性を有するため、人工関節の摺動部材に適している。一方、セラミックスも人工関節の摺動部に用いられる。セラミックスは摩耗することは問題にならないが、破壊しやすいために再手術が必要になる。CNT 複合セラミックスは破壊靱性値が高いため、摩耗も破壊もしない、理想的な人工関節の摺動部材になる。

2012 年 9 月に EC は医療機器へのナノ表示を義務づける規則改正案を発表し、ナノマテリアルを含む医療機器に関して表記することと、最大の危険度を示す Class III に分類することを提案したが、このような医療機器を本来の目的で使用した場合に、ナノマテリアルが患者および使用者の体内へ侵入するのを防ぐためのカプセル化や結合等の対策がなされていない場合に限るとした。すなわち、CNTs を複合体として生体材料に使用する場合には、母材と結合しているため、法的規制が係らない可能性がある。このように、Stage 1 はハザードがきわめて低く、各国のきちんとした法的手続きさえ踏めば、今すぐにも実施しても問題がないと考える。

次に CNTs を粒子として生体応用する Stage 2 に入るが、ナノ粒子物質が直接生体と接するこの段階が、最初の大きな関門である。この使用法は、前述の EC の定義からも法的規制の対象になり、倫理的にも国際的な承認が必要であると考えられる。すなわち、生物学的安全性評価の国際規格が構築された後に、詳細な評価が行われていることが前提である。最初は必ず局所での使用に限定するべきである。しかも、CNTs を用いるベネフィットがリスクより極めて高い場面での使用が、先陣を切るべきである。他に治療する手段がない、あるいは CNTs の治療が圧倒的に有利である場面、すなわち癌治療への応用であろう。これは、現在 CNTs に最も期待されている臨床応用分野である。CNTs を癌治療のための DDS やイメージングに応用することが可能になれば、治療と診断に格段の進歩が期待でき、多くの患者が恩恵を受けることは明らかである。

次の Stage 3 も、CNTs 粒子の局所での使用である。しかし、Stage 2 より高い安全性が求められる疾患へ応用を進めていく。再生医療の足場材、糖尿病などの癌より緊急性を要さない疾患の治療や診断などの局所治療に CNTs を臨床応用する。この段階はまた、対象疾患と使用部位が大きく広がり、CNTs の生体材料への応用が一般的になる段階である。Stage 2 と Stage 3 は、リスクは同じであるがベネフィットが異なる。

最後に、CNTs を薬物の DDS や全身のイメージングのために、注射により血流に乗せて全身に循環させる治療に応用する、Stage 4 に進むことになる。しかし、この決断は極めて慎重に行う必要がある。2012 年の時点で、欧州委員会 (EC) はナノマテリアルが関与する医薬品を 20 種類認可しているが、もちろん CNTs は含まれていない。CNTs を応用した薬物の DDS や全身イメージングは、医療において極めて有効であるが、血流に乗せて全身を循環させるリスクは大きい。CNT 粒子の体内動態や、心臓・肺・肝臓・脾臓・腎臓などへの影響を詳細に検討し、国際的なコンセンサスを果たすうえで、臨床応用に踏み切るべきである。現時点では、将来的に Stage 4 への移行が可能であるかは、全く不明である。

これらの臨床ステージを、慎重に一步一步登っていくことが重要である。それにより各ステージにおける CNTs の安全性が実証され、さらに CNTs の生体応用技術が向上すれば、現在の医療技術が大きく前進し、画期的な新しい治療方法が生み出されるであろう。

3-5 生物学的安全性評価の国際規格の構築

これまで CNTs を生体材料に応用するための安全性評価研究が世界中で行われてきたが、それぞれの研究者によって評価方法が異なり、結果を統一して解釈できないという大きな問題があった。すなわち、安全で効率的な CNTs の生体応用に必須の、centralized toxicity database の構築が不可能であった。今後、

生物学的安全性評価のための国際規格を早期に構築し、統一した評価方法で行われた毒性試験の結果を、すべて国際的に公表することが重要である。それにより、世界中から多数の信頼できる結果が蓄積され、多くの専門家が分析できるため、コンセンサスが得られた正確な決定を下すことができる。CNTs といっても多くの種類があり、化学的修飾を行った CNTs については無数の種類が考えられる。これらの CNTs の臨床応用をできるだけ安全かつ早期に行うために、生物学的安全性評価の国際規格の構築が早急に必要である。

CNTs の生体応用において、functionalized CNTs (f-CNTs) の安全性評価は極めて重要である。CNTs を粒子として生体に応用する目的が、主として DDS であったり、生体イメージングであったり、再生医療の足場材であることを考えれば、ほとんどの場面で f-CNTs が使用される。また、生体応用の鍵を握る CNTs の分散性を高めるためにも、化学的修飾は重要である。当然、f-CNTs はその一つ一つの安全性を調べなければならない。さらに現在は一歩進んで、CNTs をより生体に安全にするための functionalization が研究されている。莫大な種類の f-CNTs を効率よく生体材料に応用するためには、安全性評価の国際規格の構築がきわめて重要である。

これまでの CNTs を生体材料に応用するための安全性評価研究を踏まえて、論理的に組み立てていけば、国際的な生物学的安全性評価の規格化はそれほど難しいことではない。臨床応用の順序から考えて、まず CNTs を局所で使用する規格を構築する。具体的には、最初に ISO で規格化された一般の bulk の生体材料と同じ in vivo 試験と in vitro 試験を行う。これは主として、CNTs そのものに含まれる不純物と CNTs に結合させた分子の一部または全部が溶出して生じる毒性を評価することが目的である。次に CNTs がナノ粒子であることの固有の毒性を評価する必要がある。このための in vivo 試験は、CNTs を使用する局所への埋め込み試験で、特定の臓器または組織における生体親和性を検証する。in vitro 試験では、規格化した分散剤を用いて CNTs をきちんと分散させた上で、ISO に準拠した一般の化学物質と同様の試験を実施する。この CNTs 固有の毒性を調べる in vivo と in vitro の試験は、同じナノ粒子物質の reference と比較しなければ、評価ができない。そこで前述のカーボンブラックを reference に用いる。国際規格の統一した reference を用いれば、CNTs を粒子として局所で使用するための生物学的安全性評価の国際規格を早急に構築することができる。

この後で、CNTs を血流に乗せて使用する場合の安全性評価の国際規格の構築を目指す。基本的には CNTs を十分に溶液に分散させたうえで、やはり一般の化学物質と同じ基準で in vivo 試験を行うことになるであろう。しかし、この時の最適な reference となる物質が何であるかは、現時点では不明である。おそらく現在血流に乗せる DDS として臨床応用されているノ粒子物質の中で、CNTs と少しでも性質が異なり、安全性が確認されたものが選ばれるであろう。この CNTs を血流に乗せる場合の reference の選択については、今後の大きな研究課題である。

いずれにしろ、CNTs の生体応用の目的が、現在の医学の最重要課題である癌治療や再生医療の革新である以上、生物学的安全性評価の国際規格の構築に、一刻も早く取り掛かるべきである。すでに安全性が極めて高いと考えられる CNT 複合材のインプラントは、臨床応用の時期が来ている。これらのインプラントの臨床評価が明らかになった時には、次の段階である CNTs を粒子として局所に使うために、CNTs の生物学的安全性評価の国際規格を構築していなければならない。

③プロジェクトの管理・運営（長野県テクノ財団）



図 4 人工関節材料の構成と欠点

本年度における委託事業の成果としては CNT 材料を用いた安全性試験においてほぼ GLP 試験を終了し、体内での使用に関する安全性に関してはほぼ目途を立てたと言える。ただし現在の所 PMDA に対する対応が十分とは言えず、今後さらなるリスマネジメントを実施し、薬事申請時における安全性確保を実施する必要があると考えている。

また材料の特性に応じた製品群の選定などを実施した。

最終章 全体総括

本年度の主たる計画として主たる目標である CNT 材料を用いた安全性にかかる確認（素材）においてはほぼ目途が立ったと考えている。しかしデバイスとして評価を行った場合におけるリスクに関して十分に確認できたとは言えず、その辺りに関して今後 PMDA との折衝の中で安全性試験の実施、安全性の確認を実施する必要がある。

また早急な実用化・上市を目指し実施項目に関して選択と集中を実施する必要がある。

事業のモデルケースとしては今回実施している材料を基に製品化を実施するというケースを検討している。しかし海外での医療機器などのモデルケースとしては人工関節シミュレータ等に関しては ASTM 規格化を行い、この規格を基に AMTI-Boston などの米国製製品の販売等を行うビジネスモデル等も実施されている。この様なモデルケースを参考にナノマテリアル関連の波及効果を検討する事も必要であると考えている。