[シンポジウム4]
医療機器分野における動物実験代替法の開発状況と今後の展望

医療機器の再構築ヒト表皮モデルを利用した刺激性試験動物実験代替法の国内外の現状

国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
加藤　玲子

筆頭発表者のCOI開示

筆頭発表者氏名：加藤　玲子

な　し

＊本講演の内容は規制当局等の正式見解ではありません

本日の講演内容

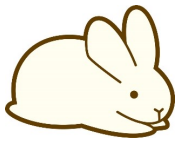
- 医療機器の刺激性評価の変遷
- 医療機器の刺激性試験のガイダンス
  - ISO 10993−23
  - 薬生機審発0106第1号通知
- RhEモデルを用いたin vitro皮膚刺激性試験
  - 国際RRS
  - 国内RRS（Catch–up validation study)
- 今後の動向

本日の講演内容

- 医療機器の刺激性評価の変遷
- 医療機器の刺激性試験のガイダンス
  - ISO 10993-23
  - 薬生機審発0106第1号通知
- RhEモデルを用いたin vitro皮膚刺激性試験
  - 国際RRS
  - 国内RRS（Catch–up validation study)
- 今後の動向

医療機器の刺激性試験

in vivo 試験



in vitro 試験

皮膚一次刺激性試験

刺激性物質が角質層を通過し浸透することを発端とした一連の現象の結果である紅斑や浮腫の程度として皮膚刺激性を評価する試験である。

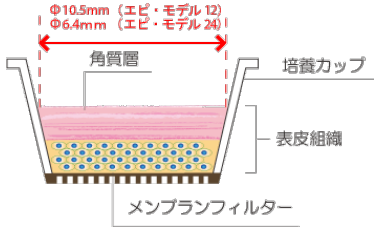
皮内反応試験

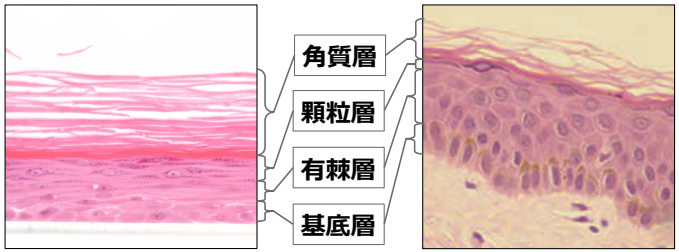
試験試料が生体内組織に接触する場合の皮膚組織傷害を紅斑や浮腫の程度として評価する試験である。

再構築ヒト表皮（RhE）モデルを利用したin vitro刺激性試験法を開発

RhEモデル：ヒト正常皮膚と類似構造

<出典> J-TECホームページ





モデル表面が空気暴露の状態であるため、極性及び非極性溶媒ともに適用できることから、医療機器の抽出液（例：生理食塩液、ゴマ油）用いた試験にも適用可能である。

OECD TG 439と医療機器用試験プロトコルとの相違点

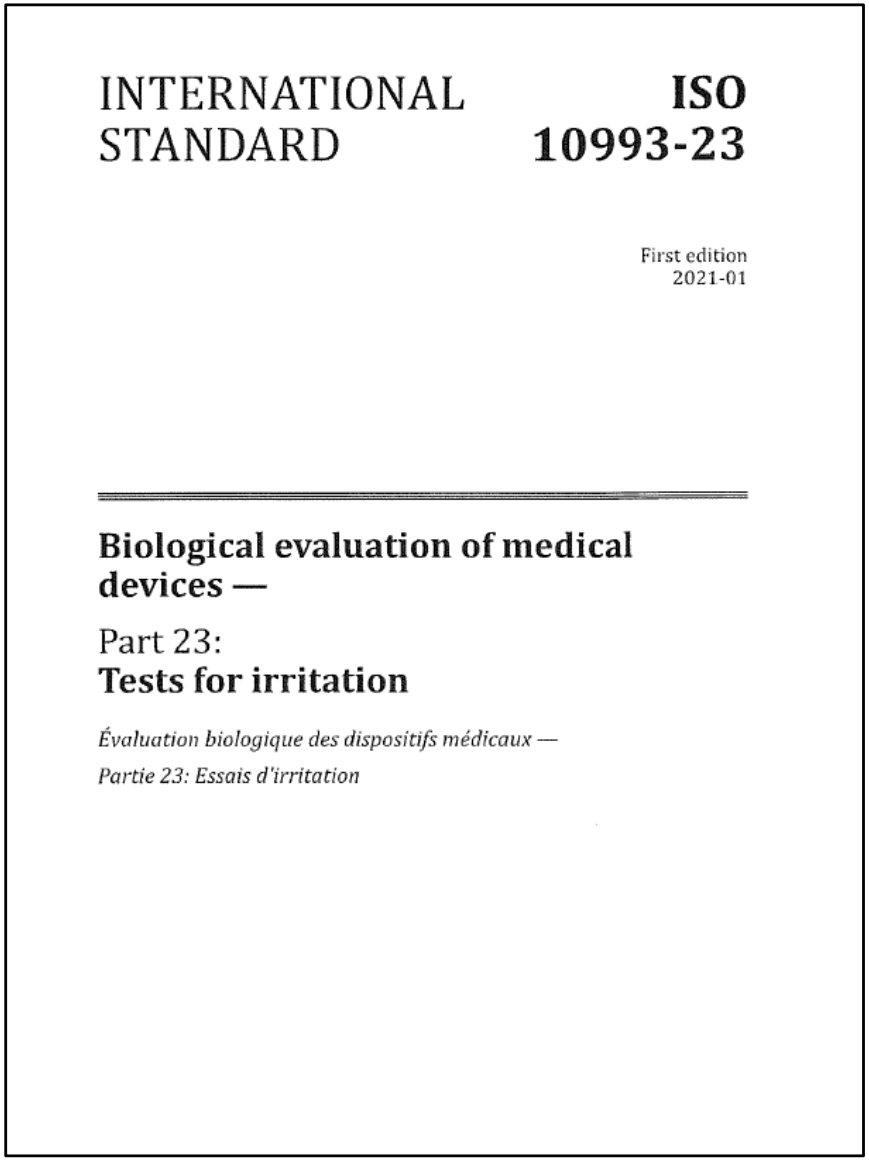
OECD TG 439	医療機器用試験プロトコル
	抽出液の調製
	抽出はISO10993-12に従う。 例）6 cm²の試験試料に対して1 mLの生理食塩液及びゴマ油にて37℃, 72時間抽出する。
RhEの前培養	RhEの前培養
被験物質の暴露	被験物質の暴露
15～60分	18～24時間
	医療機器の抽出液中に含有される刺激性物質は低濃度であると考えられることから暴露時間が延長された。
洗浄	洗浄
後培養	
細胞生存率の測定	細胞生存率の測定

本日の講演内容

- 医療機器の刺激性評価の変遷
- 医療機器の刺激性試験のガイダンス
  - ISO 10993-23
  - 薬生機審発0106第1号通知
- RhEモデルを用いたin vitro皮膚刺激性試験
  - 国際RRS
  - 国内RRS（Catch –up validation study)
- 今後の動向

医療機器の刺激性試験のガイダンス

10993-23 (Tests for irritation)



INTERNATIONAL STANDARD

ISO 10993-23

First edition
2021-01

Biological evaluation of medical devices —

Part 23:
Tests for irritation

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —
Partie 23: Essais d'irritation

医療機器の刺激性を評価できる*in vitro*試験は存在していなかった。

2016年にISO/TC 194/WG 8 で医療機器の抽出液における*in vitro* 皮膚刺激性試験のRRSが実施され、その有用性が示された。当該RRSで検証されたRhEモデルは、EpiDermとSkinEthicの2モデルのみである。(Toxicol. In Vitro 50 (2018) 439–449.)

討議を重ね、2021年1月に10993-23はISとなった。当該文書に、RRSで性能検証されていないRhEモデルについては、医療機器の抽出液を用いた多施設（3施設以上）による検証が必要との旨が記載されている。

今回、LabCyte EPI-MODEL24 の性能検証のための国内RRSを実施した。

医療機器の刺激性試験のガイダンス

薬生機審発0106第1号通知（国内ガイダンス）

薬生機審発 0106 第1号
令　和　2 年　1 月　6 日

各都道府県衛生主管部（局）長　殿

厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長
（　公　　印　　省　　略　）

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の改正について

医療機器の製造販売承認申請等に際して添付すべき資料のうち、生物学的安全性評価に関する資料の取扱いについては、「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」（平成 24 年3月 1 日付け薬食機審発 0301 第 20 号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。以下「旧生安性通知」という。）に基づき取り扱ってきたところです。今般、医療機器の生物学的安全性評価の基本的考え方について別紙のとおり改正しましたので、下記に御留意の上、貴管内関係団体、関係業者等への周知方お願いします。

また、これに伴い、旧生安性通知は、下記3記載の経過措置期限日の翌日から廃止します。

なお、本通知の写しを独立行政法人医薬品医療機器総合機構理事長、一般財団法人日本医療機器産業連合会会長、一般社団法人米国医療機器・IVD 工業会会長、欧州ビジネス協会医療機器・IVD 委員会委員長及び医薬品医療機器等法登録認証機関協議会代表幹事宛て送付することを申し添えます。

記

1.　本通知は、医療機器の製造販売承認申請、認証申請及び届出（一部変更承認申請、一部変更認証申請及び届出事項変更届出を含む。以下「製造販売承認申請等」という。）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ること。

2.　現時点において妥当とされる科学的知見に基づき作成されたものであり、科学の進歩等を反映した合理的根拠に基づくものであるならば、本通知によらずに試験を行い、その結果を申請資料等として用いても差し支えないこと。また、既に実施された試験等について、合理的根拠をもって妥当性を明らかにした上であれば、申請資料等として用いても差し支えないこと。

3.　令和4年 12 月 31 日までに行う製造販売承認申請等に係る資料については、なお従前の例によることができること。

また、既に実施された試験、現在実施中の試験、医療機器の製造販売承認申請等以外の目的で実施された試験又は外国での医療機器の承認申請その他の目的で実施された試験であって、本基本的考え方の意図する評価項目を満たし、得られた結果が品質、有効性評価又は、臨床上の安全性評価に足るものであると判断される試験については、個々の試験方法が改正後の基本的考え方に示された試験方法に合致しないものであっても、判断根拠を明らかにした上であれば、原則、改正後の基本的考え方に基づく試験と見なして差し支えないこと。

4.　化学的分析の結果に基づき生物学的安全性評価に係る試験の一部を省略しようとする場合には、製造販売承認申請等の前に独立行政法人医薬品医療機器総合機構が行う対面助言（医療機器評価相談（安全性）等）を利用することが望ましいこと。

第 5 部 刺激性試験
3.1 *in vitro* 皮膚刺激性試験(再構築ヒト表皮試験法)

令和5年1月1日からは当該ガイダンスに従って、皮膚接触や埋植される医療機器の刺激性試験の場合は、まず *in vitro* 試験の実施を考える方が望ましいこととなった。

本日の講演内容

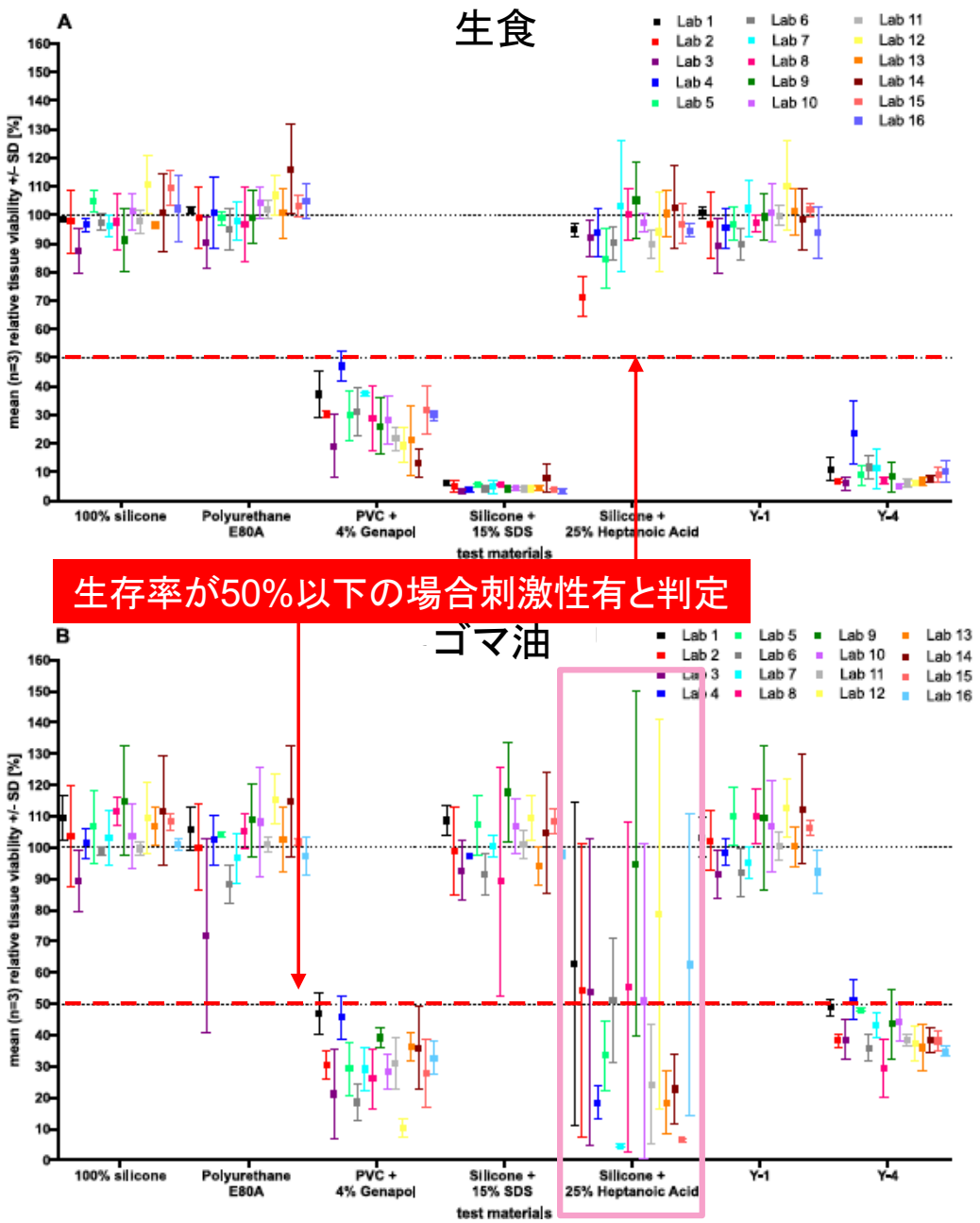
- 医療機器の刺激性評価の変遷
- 医療機器の刺激性試験のガイダンス
  - ISO 10993-23
  - 薬生機審発0106第1号通知
- RhEモデルを用いた*in vitro*皮膚刺激性試験
  - 国際RRS
  - 国内RRS（Catch–up validation study)
- 今後の動向

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

国際Round Robin Study (RRS)

- 2016年4月より開始
- 18施設が参加（日、韓、米、独、仏、伊、蘭、スエーデン、スロバキアの医療機器メーカ、医薬品開発業務受託機関、大学、政府研究機関等）
  EpiDerm™ (MatTek社): 16施設（含国立衛研）
  SkinEthic™ RHE (EPISKIN社): 8施設
- 7種類の被験物質について刺激性を評価
- 参加施設からのデータを統計解析後、各RhEモデルの性能を評価
- 2017年10月にRRSの結果をToxicology in Vitroへ投稿
  Round Robin study to evaluate the Reconstructed Human Epidermis (RhE) model as *in vitro* skin irritation test for detection of irritant activity in medical device extracts. Toxicol. In Vitro 50 (2018) 439–449.
- 2017年10月開催のTC194総会にて新規提案規格 ISO 10993-23へ *in vitro* 皮膚刺激性試験を収載するための討議を開始
- 2021年1月にISO 10993-23が発行

国際RRS：EpiDermでの検証結果



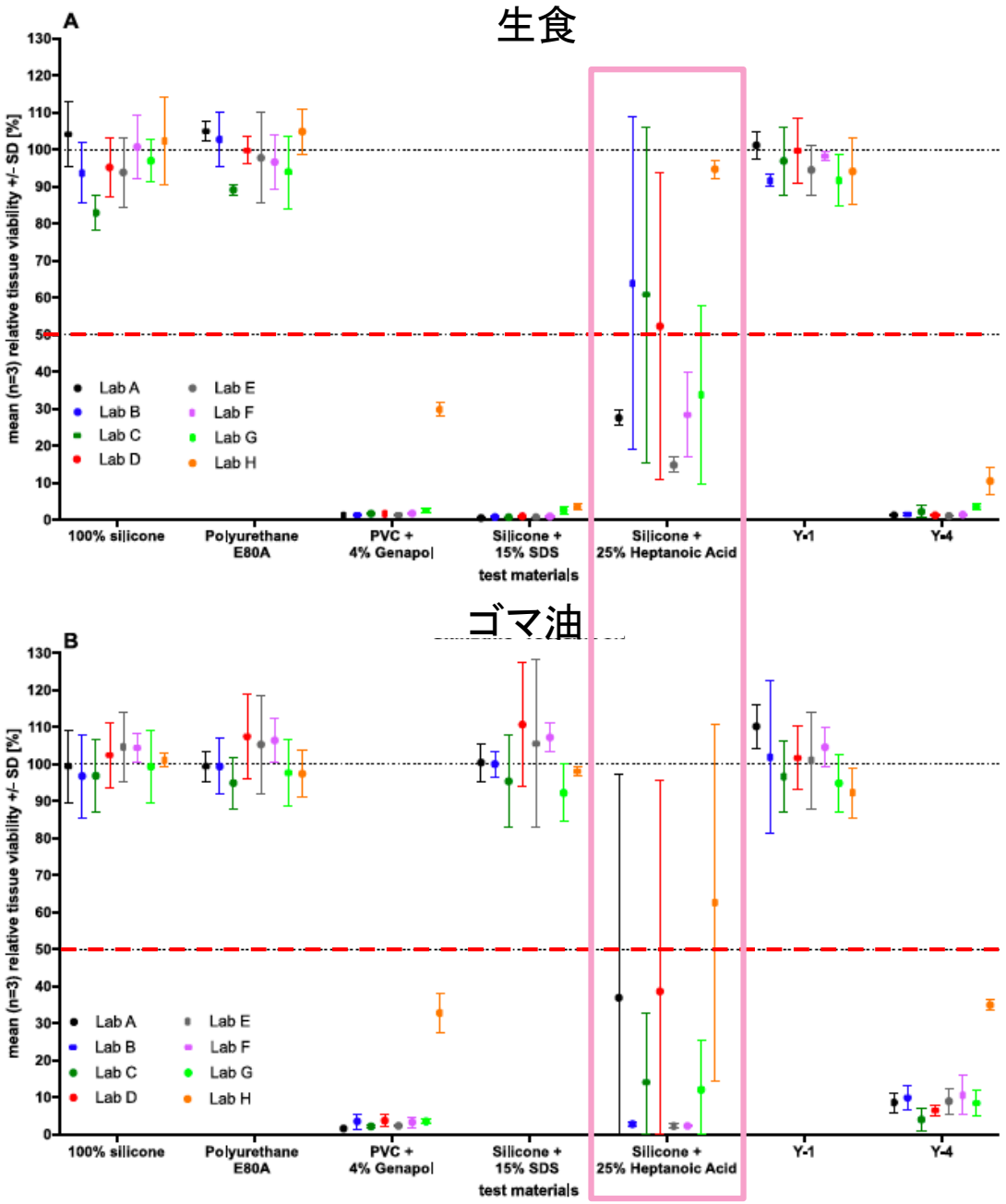
RRS用試験試料	期待される判定結果		
	生食	ゴマ油	総合判定
100% Silicone	NI	NI	**NI**
Polyurethane E80A	NI	NI	**NI**
PVC + 4%Genapol	I	I	I
Silicone + 15% SDS	I	NI	I
Silicone + 25%Heptanoic Acid	NI	I	I
Y-1（PVC nagative control）	NI	NI	**NI**
Y-4（PVC-Genapol X-080）	I	I	I

I: 刺激性、NI: 非刺激性

De Jong WH, et al.
Toxicol. In Vitro 50 (2018) 439–449.より一部抜粋

HAを除く試験試料においては、参加施設のほとんどで期待される刺激性・非刺激性と一致する結果が得られた。

国際RRS：SkinEthicでの検証結果



EpiDermと同様に、HAを除く試験試料においては、参加施設のほとんどで期待される刺激性・非刺激性と一致する結果が得られた。これら2つのRhEモデルにおいて当該試験の有用性が示された。

ISO 10993-23に*in vitro*試験法として収載されることになった。

De Jong WH, et al.
Toxicol. In Vitro 50 (2018) 439–449.より一部抜粋

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

ISO 10993-23 Biological evaluation of medical devices — Part 23: Tests for irritation（一部抜粋）

6.3 Materials

6.3.1 Reconstructed human epidermis models — Product description

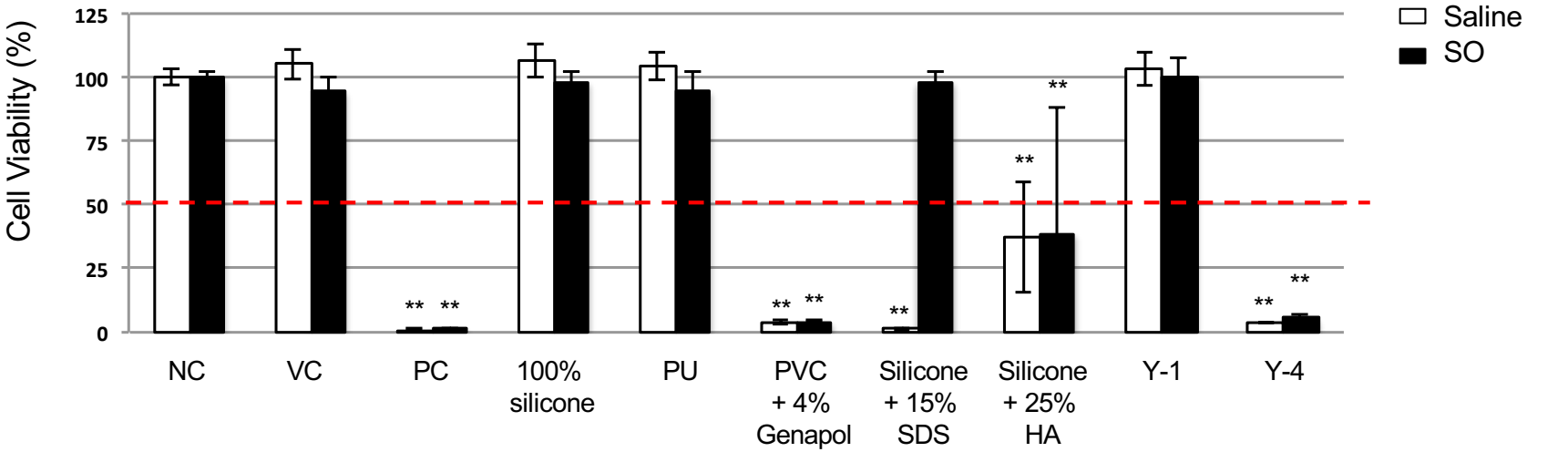
Both models have been validated by EURL ECVAM for determining skin irritation of chemicals and are included in OECD 439 and EU Guideline B.46. These models were validated with neat industrial chemicals for the purpose of classification and labelling. The other described and recognized models included in OECD 439, can be used for medical device skin irritation if validated for testing medical device extracts for skin and tissue irritation. The validation of a new RhE based method similar to a reference method is called catch-up validation.

The validation for a new RhE model listed in the OECD 439 for in vitro skin irritation must demonstrate equal performances in terms of predictive capabilities and within- and between- laboratory variability to those of the initial round robin study. The inter-laboratory study (minimum three laboratories) must be carried out blind with three runs (three production batches of the RhE model) on a set of irritant and non-irritant materials equivalent to that of the original round robin study.

LabCyte EPI-MODEL24は、TG439に収載されているが、3施設以上での検証は行われていないことからCatch-up validation studyを実施する運びとなった。

LabCyte EPI-MODEL24の性能検証

国立衛研　医療機器部で先のRRSと同一の試験試料を使用して検証した結果



（Toxicol. In Vitro 68 (2020) 104919 より一部抜粋）

HAを除く試験試料においては、RRSの結果と同様に期待される刺激性・非刺激性と一致する結果が得られた。

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

国内RRS (Catch-up validation study)

Phase I（技術移転試験）

RRSの立案：2020年3月

参加施設：16施設（CRO:12施設、医療機器メーカ：4施設）

実施期間：2021年1月下旬~2021年4月上旬

試験試料：下記の2種類

1：生食及びゴマ油抽出液においていずれも非刺激性と判定される材料

2：生食及びゴマ油抽出液においていずれも刺激性と判定される材料

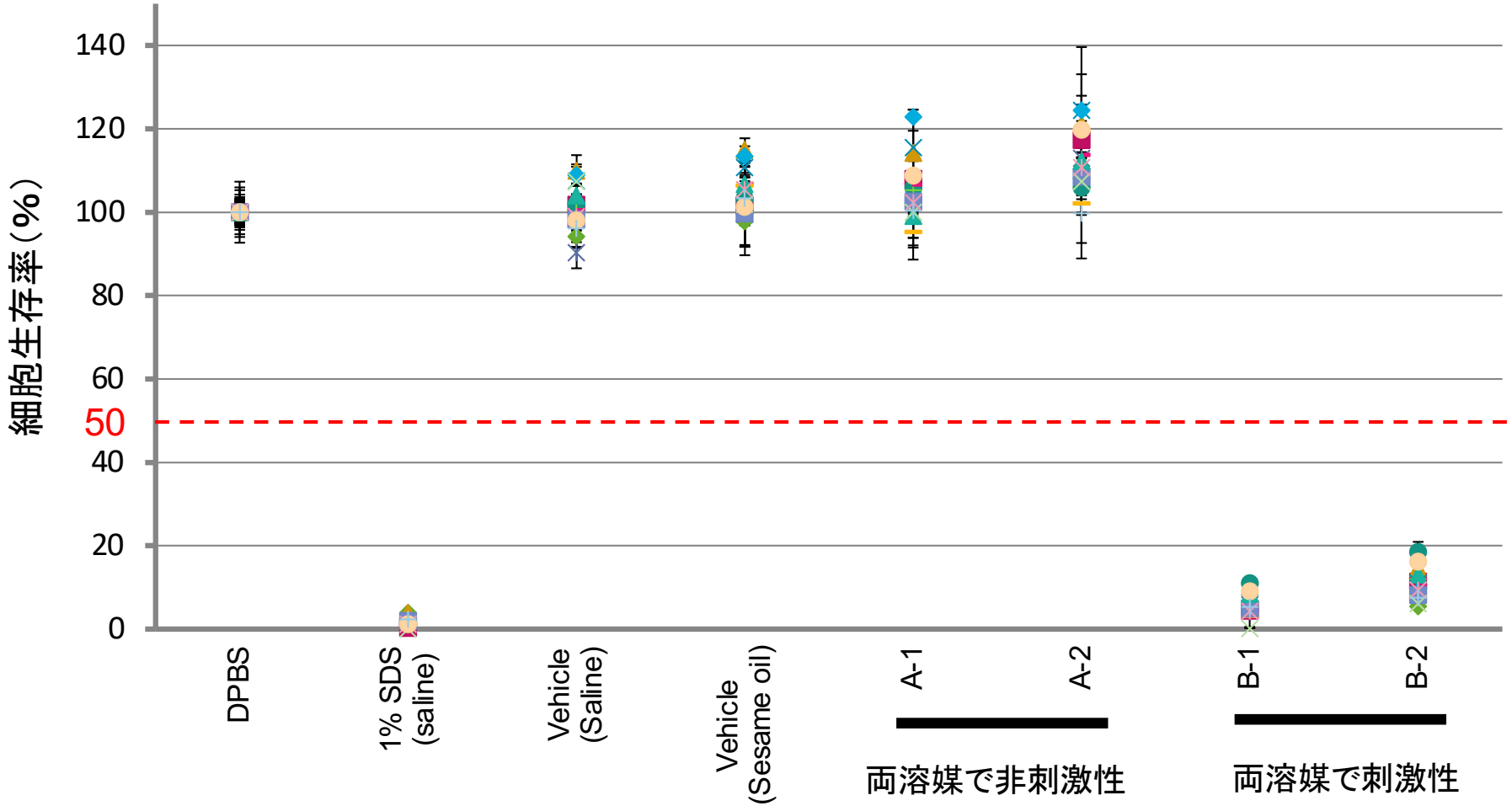
上記に加え、陰性対照((D)PBS) 、陽性対照(1% SDS)
及び溶媒対照(生食及びゴマ油)を同時に試験する。

1施設における試験回数：1回

1試験試料を適用するRhEモデルウェル数：3ウェル

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

国内RRS (Catch-up study)



すべての参加施設でそれぞれの試験試料に対し、期待される判定結果を得ることができたことから、抽出操作も含め、一連の流れは習得できたと考えられた。

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

国内RRS (Catch-up validation study)

Phase II（再現性確認試験）

JaCVAMの協力承認：2022年5月

参加施設：16施設（CRO:12施設、医療機器メーカ：4施設）

実施期間：2022年8月下旬~2023年2月上旬

試験試料：下記の4種類

1：生食及びゴマ油抽出液においていずれも非刺激性と判定される材料

2：生食抽出液においてのみ刺激性と判定される材料

3：ゴマ油抽出液においてのみ刺激性と判定される材料

4：生食及びゴマ油抽出液においていずれも刺激性と判定される材料

上記に加え、陰性対照((D)PBS) 、陽性対照(1% SDS)
及び溶媒対照(生食及びゴマ油)を同時に試験する。

1施設における試験回数：3回

1試験試料を適用するRhEモデルウェル数：3ウェル

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

LabCyte EPI-MODEL24 ラウンドロビン研究管理チームメンバー

氏名	役割と専門分野	所属
実行委員長 加藤　玲子	ラウンドロビン研究管理チーム 実行委員長	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
リードラボ 畠中　内子 三竹　博道	試験開発者及びスポンサー	株式会社ジャパン・ティッシュエンジニアリング
小島　肇	刺激性試験専門家	国立医薬品食品衛生研究所 日本動物実験代替法評価センター（JaCVAM）
足利　太可雄	記録管理者	国立医薬品食品衛生研究所 JaCVAM
寒水　孝司	生物統計家	東京理科大学　工学部 情報工学科
宮島　敦子	試験試料管理者	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
山本　栄一	スポンサー	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

本試験結果
論文執筆中のため非公開

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

国内RRS (Catch-up validation study)

医療機器の抽出液を用いた刺激性試験において
LabCyte EPI-MODEL24はEpiDermやSkinEthicと
遜色のない性能を有することを示す結果が得られた。

LabCyte EPI-MODEL24は、刺激活性を検出するための頑健なモデルであり、医療機器抽出液中の刺激物質の同定に利用可能であることが示された。

RhE モデルを利用した *in vitro* 皮膚刺激性試験

国内RRS (Catch-up validation study)

当該研究結果を、2023年10月末に開催された
ISO/TC 194/WG 8の会議で発表し、ISO 10993-23に
LabCyte EPI-MODEL24 を収載することを提案した。

次回のISO 10993-23改訂（2026年予定）より前に
Amendment（追補）を作成し、そちらに掲載する予定。

謝辞（敬称略）

国立医薬品食品衛生研究所　医療機器部
宮島敦子、藤巻　日出夫、里見理子、辻脇直美、野村祐介、岡本悠佑、長谷川 千恵、酛島由二、山本栄一

株式会社ジャパン・ティッシュエンジニアリング
加藤雅一、三竹博道、畠中内子

日本動物実験代替法評価センター
小島 肇、足利 太可雄

東京理科大学
寒水孝司

謝辞（敬称略）

Phase I, Phase II 参加施設（五十音順）

- 株式会社安評センター
- SBカワスミ株式会社
- 株式会社LSIM安全科学研究所
- オリンパス株式会社
- 一般財団法人化学物質評価研究機構
- 株式会社化合物安全性研究所
- 株式会社鎌倉テクノサイエンス
- シミックファーマサイエンス株式会社
- 一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所
- テルモ株式会社
- 日精バイリス株式会社
- ニプロ株式会社
- 一般財団法人日本食品分析センター
- 株式会社日本バイオリサーチセンター
- 株式会社ボゾリサーチセンター
- 株式会社薬物安全性試験センター

協力施設

- 富士フイルム株式会社

終わりに

ご清聴ありがとうございました

国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
加藤　玲子
r-kato@nihs.go.jp