

薬生機審発 1122 第 1 号
平成 28 年 11 月 22 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 ）

革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業の
成果に基づき策定された試験方法の公表について

厚生労働省では、革新的な医薬品、医療機器及び再生医療等製品の実用化を促進するため、平成 24 年度から、最先端の技術を研究・開発している大学・研究機関等において、レギュラトリーサイエンスを基盤とした安全性と有効性の評価方法の確立を図り、ガイドラインの作成を行うとともに、大学・研究機関等と独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「PMDA」という。）及び国立医薬品食品衛生研究所の間で人材交流を実施する事業を実施しているところです。

今般、早稲田大学先端生命医科学センター（TWIns）における検討を踏まえて提案された試験方法案を元に、下記の試験方法を別添のとおり策定しましたので、製造販売承認申請に当たって参考とするよう、貴管内関係事業者に対して周知方御配慮願います。

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、一般社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委員会委員長、国立医薬品食品衛生研究所所長宛て送付することを申し添えます。

記

持続的血液濾過器の *in vitro* 血栓性試験法

1. これらの試験方法は、現時点で考えられる評価法の一例として示したものであり、製造販売承認申請において必ずしも当該試験方法による試験の実施を求めるものではないこと。試験方法の選択等については、必要に応じてPMDAの対面助言を活用すること。
2. 革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業におけるロードマップ等においてはPMDAのホームページ (<https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/facilitate-developments/0001.html>) を参照されたい。

持続的血液濾過器の *in vitro* 血栓性試験法

Method for *in vitro* thrombogenicity testing for continuous hemofilter

1. 適用範囲

この規格は、持続的血液濾過器の血栓性^{[1]・[2]}を、*in vitro*で評価する方法について規定する。特に、この規格においては、使用環境を模擬した血液循環回路を用いて^[3]、第一に血液接触後の濾過器入口圧の測定による回路循環時間（ライフタイム）の評価、第二に濾過器への血栓の付着を評価するための試験方法に関して規定する。

2. 定義

この規格で用いる主な用語及び定義は、次による。

- a) **持続的血液濾過** 体外に取り出した血液を血液濾過器に通過させて、持続的に濾過を行う治療法。主に循環動態の不安定な症例に対する腎機能代替療法の一つとして施行される。
- b) **血液濾過器** 半透膜素材でできた中空糸束等を内蔵した血液処理を行う医療機器。中空糸を介して血液から余分な水、毒素、老廃物を濾過（除去）するために使用する医療機器。
- c) **血液ポンプ** 血液濾過器に血液を送り、試験回路内を循環させるポンプ。
- d) **濾過ポンプ** 血液濾過器の濾液ポートに接続されたチューブに設置されたポンプで、血液濾過器を通過する血液から中空糸束等を介して濾液を抽出する。
- e) **付着血栓** 試験後に生理食塩液又はリン酸緩衝液循環後、試験試料壁に付着した血栓を指す。
- f) **ライフタイム** あらかじめ設定した濾過器入口圧まで上昇するまでの時間

3. 試験回路

3.1 試験回路の構成

試験対象となる血液濾過器（試験試料）、濾過器に血液を送る血液ポンプ、血液を濾過し濾液を送る濾過ポンプ、静脈圧力調整チューブ（リザーバ）、内部圧力調節デバイスで構成する。濾過器の血液流量、濾過流量を計測する流量計、濾過器の入口圧および静脈圧を計測する圧力計を設置する。試験開始時の濾過器入口圧を設定値に合わせるための抵抗器を濾過器出口部のチューブに設置する。試験中に血液をサンプリングしない場合には、必ずしも内部圧力調節デバイスを用いる必要はない。図 1 に試験回路と試験回路に設置する装置の一例を示す。試験実施時に、恒温槽内に試験回路の一部を設置し、 $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ で試験を行う。

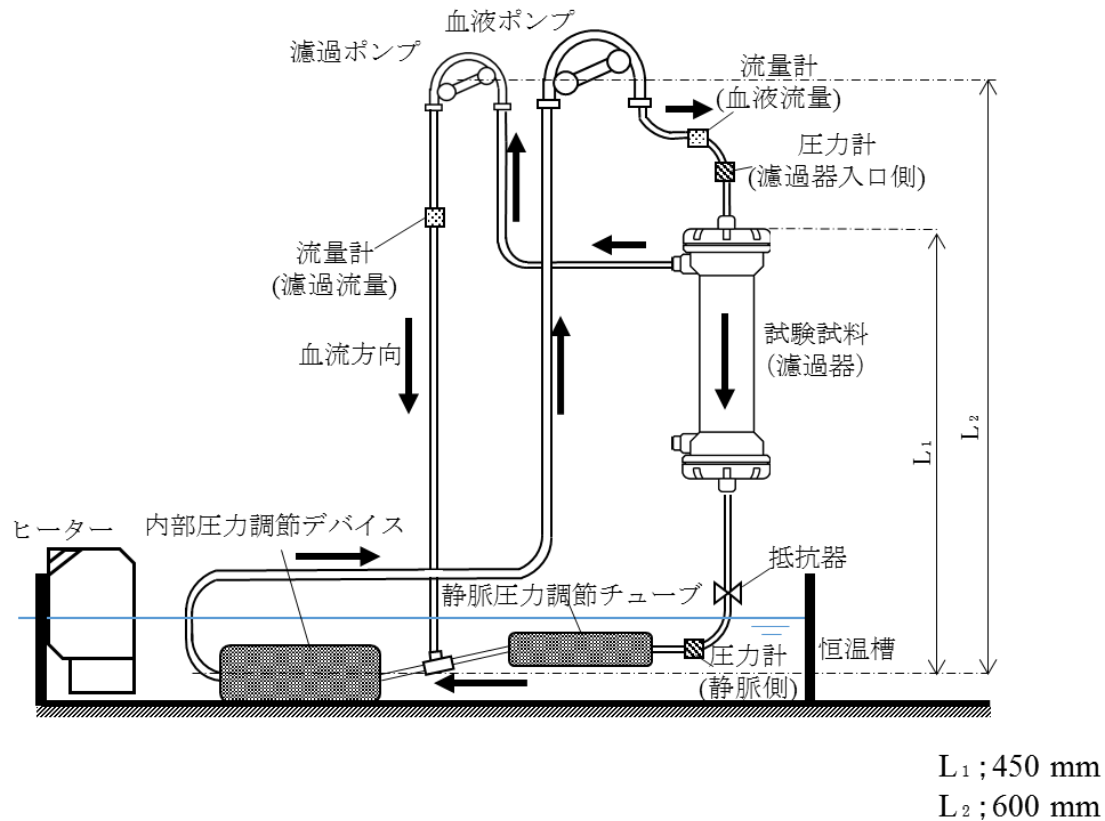


図1 試験回路及び試験回路に設置する装置の一例

3.2 試験回路に用いる器材と役割

試験回路に用いる器材と役割を次に示す。試験試料を除く試験回路に血栓が生じないように、必要に応じて以下の器材の血液接触面を抗凝固処理する。

- a) **持続的血液濾過器** 市販又は試験試料の取扱説明書等で規定される持続的血液濾過器を用いる。
- b) **チューブ** 血液回路に用いるチューブを使用する。
- c) **静脈圧力調整チューブ（リザーバ）** 静脈圧力を目標値に合わせるとともに、一定量の血液を貯留するために使用する。
- d) **内部圧力調節デバイス** 採血時に試験回路の圧力を調節するために、弾性チューブを設置する。

注記 セグメント化ポリウレタンやシリコンのチューブなどを使用することができる。

- e) **抵抗器** 血液濾過器の入口圧力を調節するため、血液濾過器の流出口に抵抗器を設ける。

3.3 試験回路に設置する装置

- a) 血液ポンプ 血液濾過器に血液を送出し試験回路内を循環させる。
- b) 濾過ポンプ 血液濾過器の中空糸膜を介して血液を濾過し、濾液を送り出す。

3.4 その他の装置及び器具

- a) 流量計 超音波血流計、電磁流量計などを試験回路に設置する。
- b) 圧力計 圧力トランスデューサなどを試験回路に設置する。
- c) 恒温槽 恒温槽内に設置した試験回路を介して血液を保温する。

3.5 試験回路の確認

試験実施前に試験に用いる回路について、生理食塩液等を用いて次のことを確認する。

- a) 試験回路の各接合部から漏れが生じないこと。
- b) 試験回路の容量。
- c) 血液ポンプで通液させた時、血液ポンプ及び濾過ポンプの回転数、抵抗器を操作して、計画した平均血液流量、平均濾過流量、目標の濾過器入口圧、静脈圧の条件を設定できること。

4. 血液調製

- a) ヘパリン等を添加した血液を使用し、Activated clotting time (ACT) を所望の設定値（例 150～180 秒）に調整すること。その他の抗凝固剤の使用が規定されている血液濾過器については、当該抗凝固剤を使用して試験を行うこと。
- b) 3.5 項の試験回路内容量以上の血液を採血すること。

注記 試験に必要な血液量を得るために、ブタなど大型動物の血液を使用することが望ましい。試験試料と対照試料の試験回路に必要な血液量を同一個体から採取すること。

- c) 採血開始から試験に使用するまで空気接触を極力避け、可能な限り採血開始から 4 時間以内を目安に試験に使用すること。4 時間を超える場合には、採血後の試験に供されるまでの経過時間が試験結果に及ぼす影響を十分に検討する必要がある。

5. 試料

5.1 試験試料

最終製品または設計管理された血液濾過器の機能を有する試験試料を用いる。

5.2 対照試料

対照試料を設定する。同一個体から採取した血液を用いて、試験試料と比較試験を行う。

注記 1 一般的には、血栓形成リスクが低い既知の対照試料を設定し、この結果と比較することで、試験試料使用時の血栓症のリスクを評価する。

注記 2 対照試料を用いた回路についても、3.5 項を確認すること。試験回路は試験試料（対照試料）を除き同じ構成にするのが望ましい。

6. 試験方法

a) 血液回路を規定の方法にしたがって生理食塩液等でプライミングする。

b) 4 項記載の血液で試験回路内を充填する。

注記 試験回路内に空気（気泡）が残らないよう注意する。

c) 3.1 項記載の試験回路を恒温槽（ $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ ）に設置する。

d) 血液ポンプ及び濾過ポンプを稼働させて計画した平均血液流量、平均濾過流量に調整し、血液循環を開始する。

注記 試験に用いる一般的な平均血液流量、平均濾過流量、及び血液循環開始時の濾過器入口圧、静脈圧の目標値を以下に示す。

平均血液流量	平均濾過流量	濾過器入口圧（目標値）	静脈圧（目標値）
100mL/min	10mL/min	70mmHg	7mmHg（脈圧 3mmHg 以下）

e) 濾過器入口圧を目標値に設定して、濾過器入口圧を経時的に記録し、試験前に設定した濾過器入口圧力に到達するまでの時間を回路循環時間（ライフタイム）とする。

f) 試験回路内を一定量の生理食塩液又はリン酸緩衝生理食塩液で洗浄後、濾過器の流入部、流出部、中空糸束に残った血栓の有無の観察を行い、写真を撮影する。

g) 必要に応じて濾過器の血液流入部から流出部に向けて、上、中、下（あるいは、上、下）に分割された部分より中空糸を採取し、走査型電子顕微鏡による観察を行い、写真を撮影する。

h) 試験前後の血液の血算（赤血球数、白血球数、血小板数、ヘマトクリット値）、総タンパク値、血漿遊離ヘモグロビン量を記録する。

7. 結果の表示

7.1 試験結果の表示は、次による。

a) 濾過器入口圧の経時変化

b) 回路循環時間（ライフタイム）

- c) 濾過器に形成された血栓の写真

例

状態	凝集塊等の分布
付着部位	血液流入部、血液流出部、濾過器の中空糸束の上中下部位

- d) 中空糸内の付着血栓の走査型電子顕微鏡による写真観察結果（付着状態、付着部位など）

例

状態	中空糸内の血栓の付着の有無、付着血栓の多少、付着血栓の様子
付着部位	血液流入口付近、血液流入口と流出口の中間付近、血液流出口付近

7.2 次の試験条件については、試験結果に付記する。

- a) 試験を実施した機関の名称、住所、試験責任者の氏名、試験開始日及び試験終了日
- b) 試験試料及び対照試料を特定する要素（名称、製造業者名、製造番号、原材料名など）
- c) 試験回路の構成（回路図、各装置を特定する要素）、試験回路の容量
- d) 使用した血液に関すること（動物種、採血量、使用した抗凝固剤とその量、ACT、採血後から血液循環開始までの時間、試験前後の血小板数、試験前後の血漿遊離ヘモグロビン量など）
- e) 使用した ACT の測定装置
- f) 血液循環前に行うプライミングの方法
- g) 血液循環条件（平均血液流量、平均濾過流量、血液循環開始時の濾過器入口圧・静脈圧）
- h) 試験後の血液濾過器の洗浄時、グルタルアルデヒド溶液で固定処理時の循環方法
- i) 血栓の観察方法（外観観察、走査型電子顕微鏡観察）

参考規格・参考文献

- [1] ISO 10993-4:2002/Amd.1:2006, Biological evaluation of medical devices Part 4:
Selection of tests for interactions with blood
- [2] ISO 8637:2010, Cardiovascular implants and extracorporeal systems –
Haemodialysers, haemodiafilters, haemofilters and haemoconcentrators
- [3] 平田麻由紀、岩崎清隆、松橋祐輝、高橋東、永井美玲、梅津光生、持続緩徐式血液濾過器の抗血栓性評価項目の提案、第 27 回バイオエンジニアリング講演会、第 27 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集、pp.141-142、新潟、2015 年 1 月 9 日

附属書 A 試験回路の情報

この附属書は、試験回路を作製するための参考情報を提供するもので、規定の一部ではない。実施例の内部圧力調節デバイスの機能、形状、材質を次に示す。

(1) 内部圧力調節デバイスの機能

循環血液を採血する際に、閉鎖系の回路内の圧力は減少する。採血する血液と同量の非圧縮性溶液を循環回路の内部圧力調節デバイスの弾性チューブ外側に入れることで、循環血液の圧力を採血前と同様にするためのものである。

(2) 内部圧力調節デバイスの材質及び形状

材質：セグメント化ポリウレタン

直径：12mm

長さ：250mm

形状：円筒チューブ状

内部圧力調節デバイスの形状：図 A.1 に示す。

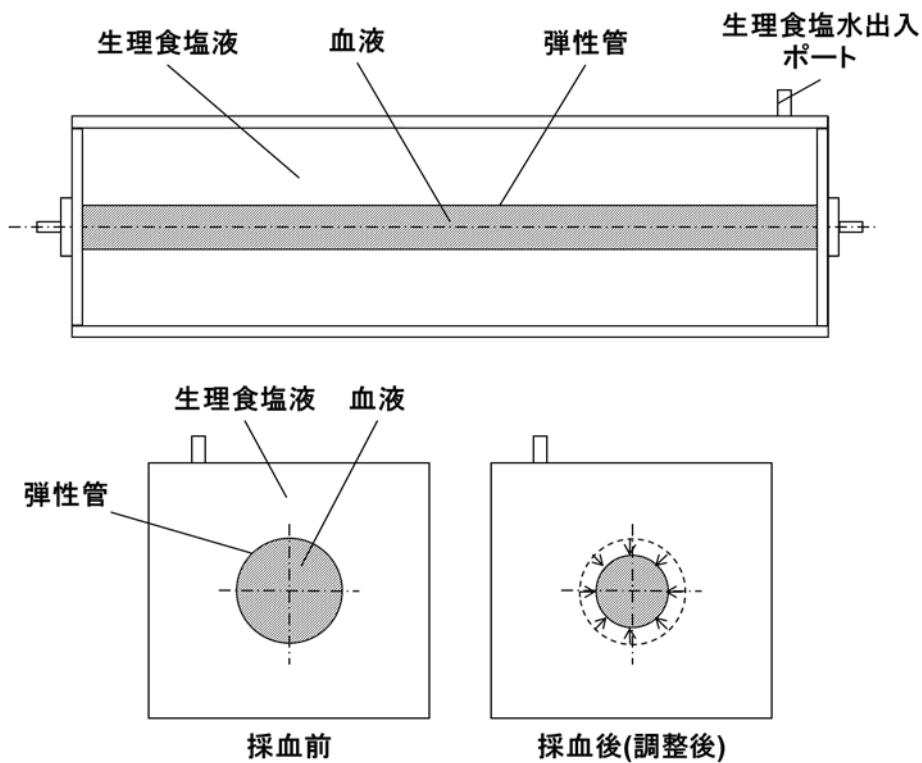


図 A.1 内部圧力調節デバイスの形状図