

医療機器・細胞組織医療機器の品質・安全性

土屋利江

Quality and Safety Assurance of Medical Devices and Tissue-Engineered products.

Toshie Tsuchiya

Medical devices and tissue-engineered products are developed using recent advanced technology. Their quality and safety assurance are required for their earlier clinical applications. It is also important to develop the cost-effective, rapid and easy methods for evaluating the quality and safety of medical device etc. for acceleration of their development.

Keywords: Medical devices, tissue-engineered products., quality and safety assurance.

1. 医療機器・医用材料・細胞組織医療機器の現状と将来

医療機器は、コンタクトレンズ、人工血管、透析器、人工心臓など、様々な組織・器官・臓器の治療、代替を目的として製造されている。その適用部位も、体外粘膜接触医療機器、体内と体外を連結する医療機器、血液と接触する体内植込み医療機器など、多種多様である（表1）。また、医療機器を構成する医用材料は、単一の材料から構成されているものは、少なく、通常複数の医用材料から構成されている。医用材料は、金属、合成高分子、天然材料、セラミックス等、通常薬の領域では使用されない材料が多量に含まれており、各材料の種類も多い。

それら医用材料は、無機有機複合化技術、傾斜化技術、バイオミメティックバイオマテリアルなど、テクノロジーの進歩とともに増大しつつある。近年は、ナノテクノロジー技術導入による材料表面の精密加工技術や、温度応答性シート工学技術など、インテリジェント機能を賦与した材料開発、医用材料を用いた遺伝子導入技術、遺伝子発現制御技術など、この分野は、先端的な方向にも進展している。

電気駆動装置が組み込まれた能動的医療機器では、電氣的安全性はもちろん、ソフトウェアの安全性が、重要課題の一つとなっている。

最近では、クスリを含む医療機器開発が治療機器の国際戦略として盛んになっている。これらは、コンビネーション医療機器として、分類されている。わが国においてはすでに、drug eluting stent 2製品が承認され臨床使用されている。

平成17年度から開始された次世代医療機器評価指標作成事業において、コンビネーション医療機器の評価指標を2年間検討し、わが国が得意とする人工骨と骨形成因子を組み合わせたコンビネーション医療機器の評価指標案を作成した。ベンチャーを含む複数の企業で研究開発が行われている（表2）。海外でも、ステント・人工骨以外の様々な治療を目的としたコンビネーション医療機器の開発が盛んになっている。

診断を目的とする医療機器分野においても、診断と同時に治療も可能な医療機器が、現在の開発戦略となっており、国際的にもこの分野の競争が激化している。

細胞組織医療機器のガイドライン化は、平成9年に中村前部長が、「細胞組織工学技術を用いた医療材料・用具の有効性・安全性・品質評価方法に関する研究」をスタートさせた。新しい技術製品である組織工学製品が健全に発展するために必要な制度、支援体制、ガイドラインなどの整備の提言を行うことを目的とした。規制枠組みの考え方や、課題と原則を多数の専門家の討議を通じて整理し、提言を行った。その後、平成12年度から、ミレニアム再生医療事業をスタートさせ、平成16年度からは、ヒューマンサイエンス財団の産官学連携体制で、組織工学材料の開発から臨床評価まで、ヒト間葉系幹細胞を用いた再生医療研究に重点をおいた研究を実施した。心筋再生・軟骨再生・骨再生において、臨床研究まで進

To whom correspondence should be addressed.

Toshie Tsuchiya; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel 03-3700-9196; Fax: 03-3700-9196; E-mail: tsuchiya@nihs.go.jp

表1 検討すべき主要評価試験

医療機器のカテゴリー		生物学的作用								
カテゴリー	接触部分	接触時間 (4.3参照) A—一時的 (<24時間) B—短・中期的 (24時間~30日) C—長期的(永久) (>30日)	細胞毒性	感受性	刺激性又は皮内反応	亜急性及び亜慢性毒性	遺伝毒性	発熱性	埋植	血液適合性
表面接触機器	皮膚	A	×	×	×					
		B	×	×	×					
		C	×	×	×					
	粘膜	A	×	×	×					
		B	×	×	×					
		C	×	×	×		×	×		
	損傷表面	A	×	×	×					
		B	×	×	×					
		C	×	×	×		×	×		
体内と体外を連結する機器	血液流路 間接的	A	×	×	×	×				×
		B	×	×	×	×				×
		C	×	×	×	×	×	×		×
	組織/骨 /歯質	A	×	×	×					
		B	×	×	×	×	×	×	×	
		C	×	×	×	×	×	×	×	
	循環血液	A	×	×	×	×				×
		B	×	×	×	×	×	×	×	×
		C	×	×	×	×	×	×	×	×
体内植込み用具	組織/骨	A	×	×	×					
		B	×	×	×	×	×	×		
		C	×	×	×	×	×	×	×	
	血液	A	×	×	×	×	×		×	×
		B	×	×	×	×	×	×	×	×
		C	×	×	×	×	×	×	×	×

検討すべき補足的評価試験

1. 体内と体外を連結する機器または体内植込み機器で、長期(30日を越えて)接触する機器は、
慢性毒性
発癌性
について、考慮しなければならない。
医療機器は多様であり、機器固有の価値に基づいて考える必要がある。慢性毒性および発癌性評価は、関連試験に関する研究・調査を行う。試験を実施する必要がないという結論に達することもある。

2. 医療機器・材料・抽出物において、以下のリスクが潜在的に存在する場合、や研究・調査の結果、必要性がある場合、試験の実施/評価をおこなう。
生殖/発生毒性
生体内分解
トキシコキネティクス
免疫毒性

3. 医療機器は、多様であり、カテゴリーで定められたすべての試験が必要であるとは限らない、また、それが実際的であるとは限らない。場合によっては、ここに示されていない追加の試験が必要な場合がある。

JIS T 0993-1 : 2004 (表1表2を改変)

表2 次世代医療機器事業

- 第一分野 体内埋め込み型能動型機器
高機能人工心臓評価指標(室長通知)
- 第二分野 テーラーメイド医療用診断機器
遺伝子判断用DNAチップ評価指標(室長通知)
- 第三分野 体内埋め込み材料(生体親和性インプラント)
骨形成因子(BMP)含有人骨に関する評価指標(案)
ナノテクノロジー 調査研究(平成19年~)
- 第四分野 ナビゲーション医療
(整形外科分野)骨折整復支援装置評価指標(案)
(整形外科分野)関節手術支援装置評価指標(案)
軟組織に適用するコンピューター支援手術装置のための評価指標(平成19年~)
- 第五分野 再生医療(細胞シート)
重症心不全細胞治療用細胞シート評価指標(案)
角膜上皮細胞シート評価指標(案)
角膜内皮細胞シート評価指標(案)
バイオ肝 調査研究(平成20年~)
- 第六分野 ニューロモジュレーション分野(平成20年~)
神経機能修飾・再建装置
例:リアルタイムロボット義手,パーキンソン病の対する脳深部刺激療法,迷走神経刺激突然死防止,人工視覚装置,痙性・疼痛の制御,多動作筋電義手,脊髄電機刺激勝圧制御など

めることができたそれらの研究を通して、前臨床・臨床評価に有用な指標を明らかにした。更に、平成17年度からは、再生医療実用化のために、最も使用頻度の高いヒト間葉系幹細胞を中心に、安全性や品質に重点をおいた基盤的研究を継続的に実施してきた。ヒト幹細胞の培養に伴い老化し、c-myc等の遺伝子のコピー数の異常細胞が有意に出現することを明らかにした。また、再生医療事業研究班において、ヒト間葉系幹細胞の増殖能力の優れた無血清培地を開発している。これらの培地に添加されるbFGFは、ヒト間葉系幹細胞のTGFβ2の産生を抑制し、老化を遅らせていることを明らかにした。最近、ヒト間葉系幹細胞のアロ移植が確認申請を通過し、困難と考えられていた再生医療事業が一段と活発化している。

前述したように、これまでに治療法がない、優れた医療技術の早期導入をはかるため、わが国で開発段階にある医療機器について、審査を迅速にするため、次世代医療機器評価指標作成事業を開始している(表2)、平成

17年度末から、5年間の予定でスタートし、今年は4年目にあたる。これまで、3年間の活動によって、「高機能人工心臓」、「遺伝子判定用DNAチップ」の評価指標は、厚生労働省医薬食品局医療機器審査管理室 室長通知として正式に発出された（表2）。

高機能人工心臓においては、オーファン医療機器として指定され、評価指標作成事業の成果と審査部門との連携が効率よくリンクし、迅速な製品化に貢献している。また、日米同時治験プログラムとしても取り上げられ、グローバルな製品化への努力も本省医療機器審査管理室および医薬品医療機器総合機構（PMDA）との連携で行われている。DNAチップ評価指標発表によって、関連製品が迅速に審査され承認された。

次世代医療機器事業は、高機能人工心臓、ナビゲーション医療（手術ロボット）生体親和性インプラント、診断機器、再生医療の分野が選定され、委員および事務局を担当した部員の努力等により、これまでに、7つの評価指標（案）を作成している。（表2）。再生医療では、重症心不全細胞治療細胞シート、角膜上皮細胞シートの2つの評価指標案をすでに作成している（表2）（掲載ホームページ：<http://dmd.nih.go.jp/jisedai/>）。

平成20年度からは、新たにニューロモジュレーション分野において開発されつつある医療機器の調査・評価指標を作成することとなった（表2）この分野は、日本学術会議においても、国も、力を入れて開発を進めるべき医療機器として提言されている。

平成9年度の調査研究の開始からこれまでに、いくつかの細胞組織医療機器等の確認申請が行われた。しかし、確認申請後も、その有効性について、既存の治療法や製品と比べたとき、期待された優位性が認められず、コスト等も考慮した結果、製品にいたっていない例もある。再生医療分野では、特に、材料の選択や設計の適切性が、有効性を上げる上で重要である。

しかし、平成19年夏に、培養表皮が、製品化第1号となった。また、同年末、山中教授によるiPS細胞の報道発表以来、再生医療製品の産業化に、再び大きな期待が寄せられている。

平成20年1月、内閣府総合科学技術会議に、iPS細胞研究WGが設置された。委員として出席し、7月初旬に、基本方針をまとめ公開している。このiPS会議においては、内閣府、文部科学省、経済産業省、厚生労働省、特許庁から行政担当官が出席し、委員には、総合科学技術会議の議員3名とiPS細胞の基礎、遺伝子治療、ゲノム解析、倫理、知財、安全性の各専門家7名から構成されていた。

このiPS細胞研究は、オールジャパン体制で行う初めての試みであり、各省の有機的連携による効率的な研究開

発推進、レギュラトリーサイエンスの重要性、産業化に必須の国際特許の積極的取得等の必要性が強調されている。

幹細胞の基礎研究は、論文数等において、わが国は、国際的にも優れているが製品化する上で必要な特許等の取得が非常に低く、国際競争に強い製品の市場化に、大きな障害となっている。国際特許取得のための予算化や・国際弁理士育成の必要性なども提言された。iPS細胞の基礎から製品化までの流れ、それらを支える基盤研究の重要性について、内閣府を含む1府3省1庁で、話し合いができたことは、各省間の壁が取り払われ、効率的な実現性に向けて、非常に有意義であった。

さて、医療機器の開発段階において、幅広い知識、高度な技術、各種材料、装置が必要である。また、それら医療機器は、体外診断機器であるのか、体内埋め込み型医療機器であるのか、手術支援装置であるのかなどによって、必要とされる専門が各々異なってくる。各分野の研究者は、自ずから専門を中心とした安全性への考え方をもっているが、安全性も1分野のみならず多くの分野の知識が必要である、異なる複数因子が重なって安全性に問題が発生していることもある。また、医療機器が、薬、細胞と組み合わせられるなど融合領域の機器開発が活発になるに従い、従来の医工連携のみでは、限界があるといえる。わが国で活発な研究が行われている研究室では、理学、薬学、農学等の研究者が在籍しており、多分野の専門家との連携による製品開発や安全性評価が必要な時代であり、欧米の大手企業では、多分野との連携による総合力の重要性を10年以上前から唱えており、開発は、20～30年先を考えた研究を先行している。

2. 材料特性

医療機器・医用材料には、様々な材料、添加剤、触媒などが使用されることから、これらの原材料の特性を明らかにすることは、特に重要である。医療用具の有効性、安全性評価手法に関する国際ハーモナイゼーション研究（分担研究者土屋利江）において、「医療用具の製造（輸入）承認申請書における原材料記載について」をまとめ、医療機器審査No. 19として、平成16年11月15日に事務連絡が発出された。療品部のISO/TC194医療機器の生物学的評価のホームページに掲載している。原材料の種類として、金属、セラミックス、ゴム、熱硬化性樹脂、熱可塑性樹脂、吸収性合成高分子、吸収性天然高分子、低分子化学物質、歯科用ボンディング剤、創傷被覆・保護材の粘膜炎剤、コンタクトレンズ、眼内レンズを取り上げた。記載事項は、1. 原材料の適用範囲、2. 原材料記載要領、3. 参考となる公的規格、4. 試験法、5. 記載例、6. 参考となっている。事務連絡発出

後、格段と申請書は整備され、医療機器の品質、安全性を確保する上で、非常に重要な文書である。

材料の特性に関連する国際文書は、10993-18 Chemical characterization of materials にまとめられている。これらの文書は、品質確保に重要であり、品質マネジメントシステム (QMS) を補完している。

3. 生物学的安全性

平成7年6月27日付けで発信された薬機第99号「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験のガイドライン」は、改訂され、平成15年2月21日付け医薬審発第0213001号「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」および、平成15年3月19日医療機器審査No. 36「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料に従うこととなった。

参考資料は、医療用具の有効性、安全性評価手法に関する国際ハーモナイゼーション研究の分担研究者(土屋)報告書としてまとめ、「医療機器の生物学的安全性評価のための試験法について」記載している。

試験される医療機器（平成17年度の薬事法改正により、医療用具は全て医療機器へ名称変更）は、表1に記載されている接触部位（表面接触機器、体内と体外を連結する機器、体内植込み機器）と接触期間（24時間以内の一時的接触、1～30日の短・中期的接触、30日を超える長期的接触）に従って分類され、その分類に応じて、生物学的試験を実施・評価する項目が決められている。

JIS T0993-1: 2004では、最新の10993-1: 2003との整合性をはかった。その結果、刺激性又は皮内反応、全身毒性(急性)、亜急性及び亜慢性毒性、埋植試験について、実施・評価すべき医療機器のカテゴリーが、増えている。

更に、現在改定中のISO/DIS 10993-1では、これらの表は、本文中から削除され、付属文書へ移された。また、健常皮膚以外に接触する医療機器・医用材料であり、30日を超えて長期的接触をする医療機器・医用材料は、慢性毒性、発癌性、生殖・発生毒性、生分解性、トキシコキネティクス、免疫毒性について、考慮することとなっている。

これらの変遷は、「試験項目は、単なるチェックリストではなく、関連経験に関する研究・調査を行った上で、必要性を検討する評価の枠組みとする」考え方が強くなったためである。

更に、試験実施・評価の考え方を示すフローが、以前は、強制力のない付属書に記載されていたが、今回の改定案では、強制力のある本文中に記載している。経験・情報が豊富になってきた経緯から、専門家の経験・調査

に基づく試験の実施・評価を行う方向へ整理されつつある。

ISO/TC194は、Biological Evaluation of Medical Devicesを扱っている技術委員会である。この委員会は、現在、16のワーキンググループ(WG)からなっており(表3)、ISO10993-1～18、TS10993-19および臨床試験に関するISO 14155の文書を作成している(表4)。また、硬膜での感染事故を教訓に、動物組織安全性に関する国際標準化を目的としたsubcommittee (SC) 1が設立され、3WGが設置された。各WGは、すでにISO文書を作成した(表4)、約2年前に、SC1にWG4を新たに設立し、BSEの除去方法に関する文書を現在作成中である。

それでは、各個別の試験方法について、わが国が、試験方法を提案し、国際標準化文書にも採用されている点を重点に記述する。

細胞毒性試験

コロニー法を提案し、実施している。海外で採用されているMEM Elution法や、寒天重層法に比べ、必要とする細胞数は少なく、検出感度が高く、特別な機器を必要とせず、客観的かつ定量的に評価できる。更に、我々の多くの研究によって、標準化材料を開発し、in vitroで得られた結果から、医用材料のin vivo組織刺激性の有無や強度を予測することが可能となった(図1)。療部で開発した標準化材料は、現在、食薬センターで、管理販売され、海外でも使用されている。

最近では、美容用のカラーコンタクトレンズが、薬事

表3 ISO TC194

医療用具の生物学的評価

- ・ WG1: 生物学的評価の原則
- ・ WG2: 材料分解・劣化など
- ・ WG3: 動物福祉
- ・ WG4: GCP
- ・ WG5: 細胞毒性
- ・ WG6: 遺伝毒性・発癌性・生殖毒性
- ・ WG7: 全身毒性
- ・ WG8: 感作性・刺激性
- ・ WG9: 血液適合性
- ・ WG10: 埋植試験
- ・ WG11: EOGなど滅菌用ガスの残留値など
- ・ WG12: 試験試料の調製と標準材料
- ・ WG13: Toxicokinetics
- ・ WG14: 材料評価
- ・ WG15: 生物学的試験へのアプローチ
- ・ TF1-5, 組織工学品の安全性、用語、試験方法の選択など、
- ・ WG16: 発熱性試験
- ・ Sub Committee 1 (製造に使用されるヒト・動物組織等の標準化: 範囲拡大へ)
- ・ WG-1 リスク評価と規制環境など
- ・ WG-2 ソースの管理・収集・操作など
- ・ WG-3 ウイルスの除去・不活化など (BSE、感染因子)
- ・ WG-4 BSEの除去方法について

表4 ISO TC194 国際標準化文書

ISO /DIS 10993-1: Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management system
 ISO 10993-2:2006 Biological evaluation of medical devices – Part 2: Animal welfare requirements
 ISO 10993-3: 2003: Biological evaluation of medical devices – Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity
 ISO 10993-4: 2002: Biological evaluation of medical devices – Part 4: Selection of test for interactions with blood. ISO/DIS 10993-5 : Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity
 ISO 10993-6:2007 Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation
 ISO/FDIS 10993-7: Biological evaluation of medical devices – Part 7: Ethylene oxide sterilization residuals.
 ISO/DIS 10993-9: Biological evaluation of medical devices – Part 9: Framework for identification and quantification of potentials degradation products.
 ISO 10993-10:2002 +Amd 1: 2006: Biological evaluation of medical devices – Part 10: Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity
 ISO 10993-11:2006: Biological evaluation of medical devices – Part 11: Tests for Systemic toxicity
 ISO/FDIS 10993-12: Biological evaluation of medical devices-Part 12: Sample preparation and reference materials.
 ISO/CD 10993-13: Biological evaluation of medical devices-Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices.
 ISO 10993-14:2001: Biological evaluation of medical devices-Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics
 ISO 10993-15:2000: Biological evaluation of medical devices-Part 15: Identification and quantification of degradation products from metals and alloys
 ISO 10993-16: 1997: Biological evaluation of medical devices-Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables
 ISO 10993-17:2002: Biological evaluation of medical devices-Part 17: Establishment of allowable limits for leachable substances
 ISO 10993-18:2005: Biological evaluation of medical devices-Part 18: Chemical characterisation of materials
 ISO/TS 10993-19:2006: Biological evaluation of medical devices-Part 19: Physico-chemical, morphological and topographical characterization of materials
 ISO/TS 10993-20:2006: Biological evaluation of medical devices-Part 20: Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices
 ISO/CD 14155: Clinical investigation of medical devices for human subjects
 ISO/TS 20993: 2006: Biological evaluation of medical devices-Guidance on a risk-management process.
 ISO 22442-1: Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives. Application of risk management,
 ISO 22442-2: Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives. Controls on sourcing, collection and handling,
 ISO 22442-3: Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives. Validation of the elimination and /or inactivation of viruses and TSE agents.
 ISO 30993 Biological evaluation of medical devices-Terminology

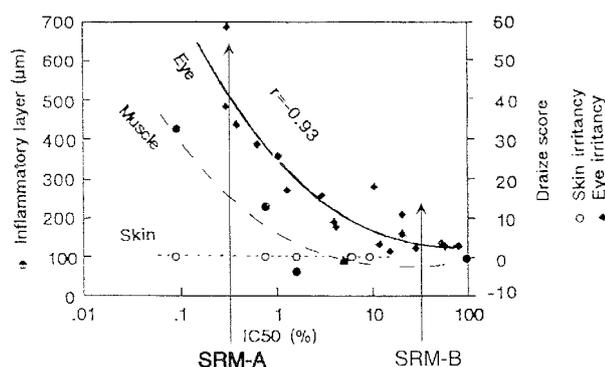


図1 材料の細胞毒性強度と異なる組織での刺激性との関係

規制外の製品であるため、適切な安全性試験が実施されていない製品が多く、使用者が購入したカラーコンタクトレンズ装用による角膜傷害が少なからず発生していた。カラーコンタクトレンズのあり方に関する検討会が開催され、各専門家を含む議論の後、報告書をまとめた。その結果、カラーコンタクトレンズは、医療機器として指定されることになった。コロニー法による細胞毒

性試験は、角膜傷害を予測する上で必要な検出感度を有していることから、カラーコンタクトレンズの細胞毒性試験にも有用となる。

また、米国では、コンタクトレンズの消毒・洗浄・保存を1液でおこなうマルチパーパスケア溶液による感染事故が多数発生した。これにともない、コンタクトレンズの国際標準化文書に掲載する細胞毒性試験の見直しが始まっている。寒天重層法では、検出感度が低い。海外では、未だ、この寒天重層法を用いた結果に基づいて審査され、認可が行われている。また、寒天バリアーが無いが、スコアによる半定量的な判定法を用いるMEM Elution法での試験結果を、わが国のV79コロニー法での試験結果と比較した。毒性物質を含む標準材料を用いて検討した結果、コロニー法では、10倍程度毒性濃度が低い抽出液についても検出できたが、MEM Elution法では、検出できなかった。

抽出液についても、ISO会議で議論となった。海外で実施されているMEM Elution抽出液については、蒸留水、生理食塩水、血清不含培地、血清含有培地を使用することが可能となっている。また、抽出温度・抽出時間

も37℃で24時間, 50℃で72時間, 70℃で72時間, 121℃で1時間とまちまちである。何に基づいて選択されたのか, 明確になっていない場合が多く, そのような試験条件で得られた結果は, リスク分析を行うにたるデータとはならない。

感作性・刺激性試験

感作性物質を含み材料を試験し, 感作性物質が示す遅延型アレルギー反応を検出するための試験である。すべての医療機器において, 細胞毒性試験とこの感作性試験を実施することが, わが国の通知及びISO国際文書において決められている(表1)。モルモットを用いた動物での試験方法は, 各国と, ほぼ同様であるが, 試験材料からの試験溶液の調製方法が異なっている。海外では, 生理食塩水と植物油で, 抽出した溶液を用いた試験方法が採用されている。我々は, 高分子からなる材料1グラムから, 有機溶媒で抽出した溶液を1mlに調製することを提案した。この方法によると, 材料からの抽出率とは, 関係無く, 材料重量として, 計算量では, 7gあれば, コントロール群10匹, 試験群10匹を用いた試験を実施可能である。企業においても, 容易に実現可能な抽出方法である。

わが国の抽出方法は, USPに記載された方法と比べても, 抽出に必要な材料の量は少なく, 更に, 材料中に存在するハザードを検出できる点が国際的にも認められ, 最新の国際標準化文書に, わが国の抽出方法が掲載されている。存在するハザードの検出は, リスク分析を定量的に行う上で, 必須かつ重要な方法である。

旧ガイドラインでは, 材料からの抽出率を強調せず, 最高濃度5~10%程度まで実施すると記載していたため, 抽出物量が少ないコンタクトレンズは, 1kg程度材料を入手して, 抽出せねばならず, 実使用状況とかけ離れており, 旧ガイドライン使用者からのクレームが多かった。

しかし, 今回, 材料7g, ロスを考えても9g程度あれば, 試験可能となる抽出方法を考案し, 公表した。その結果, 改訂した試験方法について, これまでにクレームはでていない。

ガイドライン化においては, 科学性のみならず, 迅速性, 簡便性や経済性等においても, 優れた試験方法を開発・確立し, ガイドラインに導入することが重要であることを実感した経験であった。

海外の試験方法では, 相当量アレルギー性物質を含む材料であっても, 陽性反応を検出できなかった。わが国のサンプル調製法に従って試験すべきである。

欧州各国では, 動物代替法の試験導入に熱心である。いずれの試験においても, 代替が可能な試験について

は, ISO会議で, 常に提案されている。感作性試験においても, モルモットを用いた試験実施が困難な欧州の状況から, マウスを用いたLocal Lymph Node Assay (LLNA) 試験法がオランダから提案され, 文書となっている。モルモットによるmaximization試験と同様, 並記されて本文中に記載されている。当部ではLLNAについては, 約15年前から, 活発に研究を実施しており, LLNA法の検出感度がモルモットによる試験系に比べ低いこと, また, 動物代替法といわれながら, 予想外に動物数を使用すること, 更に, アイソトープ使用による環境汚染が, 気になる。これまでのLLNA試験結果は, 化学物質での評価を行っており, 医用材料での評価結果ではない。実際, 材料の抽出液を用いた海外とのバリデーション試験では, Kimberらの原法に従ったLLNAでの評価は, 感作性物質を多量に含んだ材料にくらべ, より少量の感作性物質を含んだ材料の方が, 評価結果では, 高かった。一方, 当部の方法では, 材料からの抽出液中の感作性物質の量と, LLNA法での結果には, 相関性が認められている。LLNA法には, リンパ節からのリンパ球を体外で培養し, RIやNon-RIを用いて検出するなど, 原法とは異なる複数の方法が知られている。様々な物質を含む医用材料の感作性を評価可能とするためには, 最適な抽出方法とLLNA試験のプロトコルを確立し, 検出感度や限界を明らかにする必要がある。

刺激性についても, 現在, 皮膚モデルを用いた試験方法が, 提案されているが, 材料由来のサンプルを用いた国際バリデーション試験等を実施し, 妥当な結果が得られない限り, ISO文書の本文中に, 掲載することは, 困難と考える。

遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は, わが国では, Ames 試験, 染色体異常試験等が実施されている。この分野においても, 抽出方法が問題となっている。多量の遺伝毒性物質を含む材料であっても, ISOに記載されている培地抽出では, 遺伝毒性陽性反応を得ることができなかった。それらの結果をISO会議で発表し, わが国が, 抽出方法をまとめた文書を, 現在, 提案している。

この分野では, 現在, in vitroの遺伝毒性試験並びに, in vivoでの試験による遺伝毒性試験が, 掲げられており, 国際調和の重要課題の一つとなっている。

新規材料としては, ナノマテリアルの遺伝毒性評価方法について, 試験実施可能性, 評価の妥当性, 標準的な試験方法の提案が今後の課題となると考えられる。平成19年度から3年間の予定で, 厚生科学研究費, 「医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発」において, 現在, 検討を行っている。また, 家庭用品において

使用されているナノマテリアルの評価も実施している。医療機器として使用される材料・化学物質と、家庭用品として使用される材料・化学物質が、重なることは、少なくない。

催奇形性試験

催奇形性試験においては、動物代替試験法が、ドイツより提案されている。具体的には、Post implantation rat whole-embryo culture test (WEC), Rat limb bud micromass test (MM), Embryonic stem cell test (EST) があげられている。

WEC試験であるラット全胚培養法およびMM試験であるラット胎児肢芽細胞のマイクロマス培養法は、約20年前、筆者は、催奇形性物質のin vitro試験法として、化学物質のスクリーニングに盛んに実施していた。また、血清試料を用いて、催奇形性活性を測定する手法も開発しており、材料からの抽出物についても、評価可能であろうと予測している。

ナノマテリアルの代表であるフラーレン類について、ラットとマウスの胎児の肢芽細胞を用いて検討した。

その結果、ラットでは、著しい軟骨分化促進作用を観察した。しかし、ヒトの軟骨細胞では、逆に阻害作用を認め、種差、組織由来の差が存在する。

ナノマテリアルで、気になる点は、妊娠マウスに、フラーレンをin vivo投与し、胎児を観察した結果、胎児の神経系の形態異常を観察した。この胎児の出生後の影響について、詳細に検討する必要があると考える。

発ガン性試験

材料の発ガン性評価、

材料の発ガン性については、短期間で試験実施が可能なトランスジェニックマウスを用いた試験法が、現在提案されている。プロトコルの詳細とその妥当性について、検討する必要がある。各種材料による発ガン性について、トランスジェニックマウスを用いた共同実験を実施している。

材料発ガンには、材料の表面特性、材料の形状、材料の物理化学的特性、材料中の添加剤など、様々な要因が関わっていることが知られている。

材料発ガン機構について、ギャップ結合細胞間連絡機能に着目し、研究を実施してきた。これまでの研究の積み重ねで、いくつか明らかになったことについて、TC194WG15のタスクフォース (TF) でまとめつつある。

血液適合性試験

現在、様々な治療目的で、血液接触する医療機器が開

発され、臨床使用されており、この分野の機器は、比較的高いリスクの機器に分類されている。各個別の医療機器の血液適合性を適切に評価可能な試験法を明らかにするために、新しい最新の文献等を調査し、現存の標準化文書の見直しがスタートした。

埋植試験

埋植した材料の病理組織評価方法が、取り上げられており、わが国のガイドラインに示している客観的かつ定量的な方法を採用する必要がある。新たに提案されている評価法は、外部機関とのバリデーション試験が実施されておらず、再現性や感度、精度が明確になっていない。

エンドトキシン・発熱性試験

医療材料からのエンドトキシンの回収が大きな課題となっている。薬局方に記載されている抽出方法で、回収されにくい製品が多く、1%程度の回収率を示す製品もあった。エンドトキシン以外で、発熱性を示す材料やサイトカインが存在しており、解析には、注意を払う必要がある。現在、エンドトキシンの回収に効果的な抽出方法や、回収せずに、直接測定できる方法の開発を進めている。この分野も動物を使用しない方法が、国際標準化試験として、提案されている。配島らは、複数のヒト細胞を用いた方法で、各種材料を比較検討している。これまでの一連の研究成果を基に、国際標準化のための文書をまとめ、ISO会議で提案した結果、独立したTR文書としてまとめる方向が決定された。

免疫毒性試験

ISO/TS 10993-20として、2005年に国際標準化文書を作成している (表4)。

生分解性試験

これらの材料では、酵素および非酵素反応による分解が知られている。材料の化学組成や、分子量、使用された触媒等の種類により、分解スピードが異なる。いずれにしても、臨床使用類似条件下で評価する必要がある。また、評価方法の妥当性についても示す必要がある。

臨床試験

見直しがはじまっている。原則は、ICHとの整合性をはかり、臨床試験の質の向上を目指した。薬にはない機器特有の臨床試験の視点にたつて、文書中の字句や単語の修正作業等がスタートしている。

4. その他

安全性には、インプラント寿命の長期化にともない、長期埋植後の生物学的安全性試験とともに、インプラントの生体内での耐久性を、評価できる試験を実施するとともに、力学適合性についても示す必要がある。

力学適合性評価については、材料が腐食・疲労・劣化する以前の段階で、比較的埋植早期に発生する破損の場合には、材料の選択やデザインなどの設計上の判断の誤りが考えられる。早期に発生した破損事故等については、コンピューターシミュレーション技術を用いたリスク評価が比較的可能である。

たとえば、ステントの材料組成の違いやメッシュ構造のデザイン設計の違いが力学的適合性へ及ぼす影響は大きい。適用部位を考慮し、臨床使用状況をシミュレートできる方法を開発し、破損等のリスク低減化のための研究評価を行う必要がある。

人工股関節においては、比較的長期使用後、カップ等の破損を起こした医療機器については、「摘出した人工股関節の不具合の原因究明に関する研究」を立ち上げ、現在、原因究明に関する研究を臨床機関と連携して解析を進めている。

医療機器・医用材料の耐久性評価試験については、摘出したインプラントで、実際に問題があったポリエチレン部分の摩耗・疲労等に関する耐久性試験を実施した。試験方法は、摘出物から材料小片を作製し、容易に試験実施可能なかつ実用的な試験方法を開発している。

その他、現在医療機器として歯科インプラント、ステント、ガイドワイヤーなど、破損報告があるものを選び、それらの製品の破損事故例を低減化させるために、有用な評価方法を開発するための研究を行っている。

5. 細胞組織医療機器について

ヒト間葉系幹細胞については、品質確保のために有用な特性解析として、有用なマーカー及びその評価法開発に関する研究と、安全性確保として、発ガン性を評価可能とするために、軟寒天コロニー形成試験、免疫不全動物移植試験を実施している。

最近、ヒトガン細胞を埋植した結果、免疫不全動物によるガン細胞の生着試験結果を比較した結果、日本で開発された免疫不全動物では、10個の癌細胞で生着することを明らかにした。他の免疫動物にくらべ、1万から百分の1の細胞数で生着した。詳細は、近日発行する本に掲載されている。ISO/TC150では、組織工学インプラントの標準化文書を作成するための組織としてSC7を設立した(表5)。この幹事国は、日本となっており、国際幹事に中岡竜介室長が選任され、国際標準化へのルートが開かれた。

細胞組織利用医療機器の安全性やリスク管理については、TC194で扱うことになっており、2008年9月ベルリンで開催されたTC150SC7とTC194SC1との合同会議において、各TCで扱う範囲について議論された。その結果、TC194SC1において、生きたヒトおよび動物細胞を含む製品について、標準化文書作成の方向で調整された。また、造腫瘍性試験法については、筆者が国際標準化文書案を作成することとなっている。

表5 ISO TC150外科用インプラント

- ・SC1 材料
- ・SC2 心臓血管系インプラント
- ・SC3 神経外科系インプラント
- ・SC4 人工骨、人工関節
- ・SC6 動力源を要するインプラント
(能動的、例：人工心臓など)
- ・WG8 人工乳房
- ・SC7 組織工学インプラント (幹事国は日本)

6. 材料—細胞相互作用

材料の生体適合性試験の一環として、チタン—ジルコニウム合金を用いて、胚芽細胞の分化能力を評価することを実施した。材料上で、マイクロマスカルチャーを行うと、感度高く、材料の分化に及ぼす影響を観察できることが明らかになった。また、ラット胎児の中脳領域の細胞を用いて、神経分化に及ぼす影響について、各種表面加工を行った高分子材料上でマイクロマスカルチャー試験を実施した。その結果、表面加工の優れた高分子材料では、神経細胞の増殖分化とともに、優れた反応を示している。

胎児由来の軟骨・神経前駆細胞による評価方法は、材料と細胞との相互作用を観察する上で、また、軟骨および神経再生のための組織工学材料の評価の観点からも有用な方法である。

7. 医用材料の評価法の開発

ギャップ結合細胞間連絡機能を指標とした医用材料の新しい試験法を、各種材料や、添加剤について試験を実施し、材料の選別にすぐれていることが理解され、米国のASTMが主催する委員会で、文書作業が開始され、現在最終段階に到達している。

8. DEHP

議長からの依頼で、医療機器からのDEHPの分析方法について、療品部が主体となり、葩島らがまとめ、ISO/TC194 WG11のTS文書として、提案している。

わが国のDEHP規制やToxicological threshold concern (TTC) に関する考え方も、国際文書として提案している。

9. 生体適合性とは

医療機器・医用材料分野では、生体適合性という言葉が昔から良くつかわれている。生体適合性は、非毒性のみでもなく、生物学的安全性を包含するが、生体内で必要とされる時間的、立体的、組織的、力学的な高次機能とも適合できることを意味していると考えている。通常、生物学的安全性と誤解され・混同されて使用されている文書が多い。

生体適合性にふくまれる用語として、組織適合性や血液適合性などもある。これらは、材料からの抽出物のみならず、材料表面性状や材料と細胞組織間の界面の反応が、生体適合性の有無に大きな影響を及ぼす。

医療機器分野では、個体としてのヒト全体から伝わる動的な構造変化を常に考えながら、評価を行うことが重要であり、そのための試験装置や、計測技術の開発が盛んになっている。従って、ヒトに使用する埋め込み型の人工心臓の開発に限っても、血流のシミュレーション解析技術等を導入し、装置の血液適合性評価を行っている。また、駆動部分の耐久性、温度上昇防御など、様々なリスクを解決するための技術等が必要となる。

10. 安全性と開発

安全性と開発は、表裏の一体の関係がある。

医療機器の早期の開発段階において、安全性評価の考え方を示し、リスクを早期に推定・確認し、解決策を示すことが開発コストをさげ、有効性の高い医療機器・医用材料の迅速な開発に重要である。安全性の専門家と材料開発研究者が一緒になって、活発な議論をすることにより、設計に必要なこと、欠けていること、改善すべき点などが見えてくる。

11. 国際標準化

1989年ドイツにおいて、第1回ISO/TC194会議が開催され、その後、現在にいたっている。毎年、総会がほぼ年1回のペースで開催され、総会の間には、個別のWG会議が開催されている。

薬の世界では、ICHがあるように、医療機器分野は、ISOとIECがある。IECは、体内に埋植しない電気駆動による医療機器を主にあつかう。一方、ISOは、体内に埋め込む医療機器もあつかう。ISO、IECは、技術的文書を作成し、Global Harmonization Task Force (GHTF) は、政策的な文書を主に作成している。ISO、IECには、多くの技術委員会がある(表6)。

療品部は、ISO TC194(医療機器の生物学的評価)に関して、日本の牽引役としての役目を担っており、TC194で作成されるISO文書に、日本の考え方や技術を、部員一丸となって、積極的に盛り込んでいる(表

表6 ISO・IEC 主な技術委員会

ISO TC76	医療用輸血装置
ISO TC84	医療用注射器及び注射針
ISO TC150	外科用インプラント
ISO TC194	医用歯科用材料及び医療機器の生物学的評価
ISO TC 85 SC2	放射線防護
ISO TC106	歯科用材料・器械
ISO TC121	麻酔装置及び医療用呼吸器
ISO TC172	光学及び光学機器
ISO TC172SC5	顕微鏡及び内視鏡
ISO TC172SC7	眼鏡光学及び眼科・眼鏡機器
ISO TC172 WG4, WG5	眼内レンズ、コンタクトレンズ
ISO TC210	医療機器の品質管理と関連する一般事項
ISO TC157	避妊具
ISO TC170	外科用器具
ISO TC198	ヘルスケア製品の滅菌
ISO TC45	ゴム及びゴム製品
IEC TC62	医用電気機器
IEC TC62 SC62A	医用電気機器の共通
IEC TC62 SC62B	医用画像装置
IEC TC62 SC62C	放射線治療装置、核医学及び放射線量計
IEC TC62 SC62D	医用電子機器
IEC TC87	超音波

4)。

医療機器は、機器そのものの発展とともに、周辺技術との複合化が起こりつつある。わが国のこれまでの教育制度では、総合的に強い人材の育成には、まだ、不十分である。

医療機器を、効率良く学び研究できる医療機器学部・医療機器大学等を創設するなど、あらたな教育と研究の仕組みをつくれれば、個々の技術は、優れていることから、わが国の医療機器産業は、先頭を行く国際競争力のある医療機器産業へうまれかわる。

参考文献

ガイドライン、単行本

1. 生物学的安全性試験の基本的考え方について (医薬審発第0213001号, 2003.2.13)
2. 生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について (医療機器審査No. 36, 2003.3.19)
3. 医療用具の製造(輸入)承認申請書における原材料記載について (医療機器審査No. 19, 2004.11.15)
4. 医薬品GLPガイドブック2008 日本薬剤師研修センター編集 2008, p.21-46
5. 医薬品・医療機器 改正GLP解説 上巻, 下巻, 薬事日報社 2008
6. 土屋利江, バイオマテリアルの安全性を考える, バイオマテリアル-生体材料-, 2004, 22-2, 69-70, 2004.
7. 土屋利江(編), 医療材料・医療機器の安全性と生体適合性, シーエムシー出版, 2003.11
8. 土屋利江(編), 再生医療品における幹細胞とバイオマテリアル=開発から臨床まで, 培風館, 印刷中

細胞毒性

1. Bayar Hexig, Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Safety Evaluation of Surgical Materials by Cytotoxicity Test, *J. Artificial Organs* (2008) accepted
2. 中岡竜介, 松本富美子, 宗林さおり, 柳橋哲夫, 土屋利江, 視力補正を目的としないカラーコンタクトレンズの細胞毒性, *衛研報告*2007, 125, 61-64.
3. 五十嵐良明, 鹿庭正昭, 土屋利江, 家庭用品に使用される化学物質の細胞毒性:平成9~16年度対象化学物質の結果, *国立医薬品食品衛生研究所報告* 2005第123号, 53-56.
4. Masato Tamai, Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Cytotoxicity of Various Calcium Phosphate Ceramics, *Bioceramics, Key Material Eng.* 2006, Vol. 309-311, 263-266.
5. Kazuo Isama, Atsuko Matsuoka, Yuji Haishima and Toshie Tsuchiya, Proliferation and differentiation of normal human osteoblasts on dental Au-Ag-Pd casting alloy: Comparison with cytotoxicity using fibroblast L929 and V79 cells. *Mater. Trans.* 2002, 43, 3155-3159.
6. 五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠, 家庭用品に使用される化学物質の細胞毒性:平成3~8年度対象化学物質の眼刺激性の予測, *Bull. Natl. Inst. Health Sci.* 1997, 115, 130-134.
7. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Cytotoxicity of medical materials sterilized with vapour-phase hydrogen peroxide. *Biomaterials*, 1995, 16, 177-183.
8. Toshie Tsuchiya, Yoshiaki Ikarashi, Tadashi Arai, Jyunichi Ohhashi, Kazuo Isama and Akitada Nakamura, In vivo Tissue/Biomaterial toxic response: Correlation with cytotoxic potential but not cell attachment. *Clinical Materials*, 1994, 16, 1-8.
9. Toshie Tsuchiya, Studies on the standardization of cytotoxicity tests and new standard reference materials useful for Evaluating the safety of biomaterials. *J. Biomaterials Applications*, 1994, 5, 139-157.
10. Toshie Tsuchiya, Yoshiaki Ikarashi, Tadashi Arai, Jyunichi Ohhashi and Akitada Nakamura, Improved sensitivity and decreased sample size in a cytotoxicity test for biomaterials: A modified colony microassay using a microplate and crystal violet staining. *J. Applied Biomaterials*, 1994, 5, 361-367.
11. Toshie Tsuchiya, Yoshiaki Ikarashi, Hideyo Hata, Kazuhiro Toyoda, Michihito Takahashi, Takao Uchima, Noriho Tanaka, Toshi Sasaki and Akitada Nakamura, Comparative studies of the toxicity of standard reference materials in various cytotoxicity tests and in vivo implantation tests, *J. Applied Biomaterials*, 1993, 4, 153-156.
12. Toshie Tsuchiya, Tadashi Arai, Jyunichi Ohhashi, Kiyoshi Imai, Hajime Kojima, Satoru Miyamoto, Hideyo Hata, Yoshiaki Ikarashi, Kazuhiro Toyoda, Michihito Takahashi and Akitada Nakamura, Rabbit eye irritation caused by wearing toxic contact lenses and their cytotoxicities: In vivo/in vitro correlation study using standard reference materials, *J. Biomedical Materials Research*, 1993, 27, 885-893.
13. Hideharu Shintani, Toshie Tsuchiya, Yasuo Hata and Akitada Nakamura, Solid phase extraction and HPLC analysis of toxic components eluted from methyl methacrylate dental materials, *Journal of Analytical Toxicology*, 1993, 17, 73-77.
14. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura, Comparison of three in vitro assays to determine the ocular toxicity of detergent, oil, and organic solvents, *J. Toxicol. Cutaneous and Ocular Toxicology*, 1993, 12, 15-24.
15. Toshie Tsuchiya, Yoshiaki Ikarashi, Kazuhiro Toyoda, T. Uchima, T. Miyahara, M. Takahashi and Akitada Nakamura, Toxicological evaluation for biomaterials: Examinations of radiation vulcanized natural rubber latex, *Radiat. Phys. Chem.* 1992, 39, 541-545.

感作性・刺激性等

1. Nakamura A, Kanazawa Y, Sato H, Tsuchiya T, Ikarashi Y, W H.D Jong, K E. Andersen, B B. Knusen, Ebaluation of Allergic Potential of Rubber Products: Comparison of Sample Preparation Methods for the Testing of Polymeric Medical Devices. *J Toxicology*, 2003, 22, 169-185.
2. Y Ikarashi, M Kaniwa, T Tsuchiya, Sensitization potential of gold sodium thiosulfate in mice and guinea pigs. *Biomaterials*, 2002, 23, 4907-4914.
3. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura, M. Beppu and K. Kitagawa, Effect of vitamin E on contact sensitization responses induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in mice. *J. Nutr.Sci. Vitaminol.* 1998, 44, 225-236.
4. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Application of sensitive mouse lymph node assay for detection of contact sensitization

- capacity of dyes., *J. Applied Toxicol.* 1996, 16, 349-354.
5. Yoshiaki Ikarashi, Jyunko Momma, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Evaluation of skin sensitization potential of nickel, chromium, titanium and zirconium salts using guinea-pigs and mice. *Biomaterials*, 1996, 17, 2103-2108.
 6. 五十嵐良明, 土屋利江, リンパ節活性化を指標とした新しい感作性試験法の開発, 衛生試験所報告, 1994, 112, 301-304.
 7. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Contact sensitivity to tinuvin P in mice. *Contact Dermatitis*, 1994, 30, 226-230.
 8. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Contact sensitivity of and cross-sensitivity between 2-(2'-hydroxy-5'-methylphenyl) benzotriazole (Tinuvin P) and 2-(2'-hydroxy-3'-tert-butyl-5'-methylphenyl)-5-chlorobenzotriazole (Tinuvin 326) evaluated by lymph node cell proliferation and ear swelling response in mice. *Toxicology Letters*, 1994, 71, 151-159.
 9. Yoshiaki Ikarashi, K. Ohno, Jyunko Momma Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Assesment of contact sensitivity of four thiourea rubber accelerators: Comparoson of two mouse lymph node assay with the guinea pig maximization test. *Fd chem. Toxic.* 1994, 32, 1067-1072.
 10. Yoshiaki Ikarashi, Yasuhiro Tsukamoto, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Influence of irritants on lymph node cell proliferation and the detection of contact sensitivity to metal salts in the murine local lymph node assay, *Contact Dermatitis*, 1993, 29,128-132.
 11. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Evaluation of contact sensitivity of rubber chemicals using the murine local lymph node assay, *Contact Dematitis*, 1993, 28, 77-80.
 12. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, A sensitive mouse lymph node assay with two application phases for detection of contact allergens. *Arch Toxicology*, 1993, 67, 629-636.
 13. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Detection of contact sensitivity of metal salts using the murine local lymph node assay. *Toxicology Letters*, 1992, 62, 53-61.
 14. Yoshiaki Ikarashi, Keiko Ohno, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Differences of draining lymph node cell proliferation among mice, rats and guinea pigs following exposure to metal allergens, *Toxicology*,1992, 76, 283-292.
 15. 矢上晶子, 加野尚生, 松永佳世子, 矢上 健, 靛島由二, 土屋利江, 国内の天然ゴム製品から溶出する主要なアレルギー蛋白は何か?, *日本ラテックスアレルギー研究会誌*, Vol. 8, No. 1, 46-51, 2004.
 16. 矢上 健, 靛島由二, 土屋利江, 富高晶子, 加野尚生, 松永佳世子, プロテオミクスの手法を用いたラテックスアレルギーの解析. *日本ラテックスアレルギー研究会誌*, 2003, 7, 38-43
- ### 遺伝毒性
1. Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y. and Tsuchiya T.: Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test. *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 2008, 86, 13-22.
 2. Atsuko Matsuoka, Kazuo Isama, Toshie Tsuchiya, In vitro induction of polyploidy and chromatid exchanges by culture medium extracts of natural rubbers compounded with 2-mercaptobenzothiazole as a positive control candidate for genotoxicity tests, *J Biomed Mater Res*, 2005, 75(2), 439-444.
 3. Toshie Tsuchiya and Tsutomu Yamaha, Cultural conditions for a quantitative liquid method using the spore rec-assay system., *Agric. Biol. Chem.*, 1984, 48 (6), 1655-1657.
 4. Toshie Tsuchiya and Tsutomu Yamaha, Depletion of the reduced glutathione level in the liver and production of the mutagens in the intestine in the mice inducing hepatome by feeding on a high level dose of sorbic acid., *Mutation Research*, 1984, 130, 267-272.
 5. Toshie Tsuchiya and Tsutomu Yamaha, The production of mutagens in the intestine of mice fed on a diet containing 15% sorbic acid (I)., *The Journal of Toxicological Sciences*,1983a, 8, 15-24.
 6. Toshie Tsuchiya and Tsutomu Yamaha, Urinary excretion of mutagens and the effects of sorbic acid on the lipid peroxide level in the mice fed on a 15% sorbic acid diet., *The Journal of Toxicological Sciences*, 1983b, 8, 213-222.
- ### 発ガン性
1. Saiffudin Ahmed, Toshie Tsuchiya, A mouse strain difference in tumorigenesis induced by biodegradable

- polymers, *J. Biomed. Mater. Res.* 2006, 79A, 409-417.
2. Atsuko Matsuoka, Toshie Tsuchiya, Gene expression changes in BALB/3T3 transformants induced by poly (L-lactic acid) or polyurethane films. *J Biomed Mater Res A.* 2004, 68 (2), 376-82.
 3. Saifuddin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Novel mechanism of tumorigenesis: Increased transforming growth factor-beta 1 suppresses the expression of connexin 43 in BALB/cJ mice after implantation of poly-L-lactic acid. *J Biomed Mater Res.* 70, 335-340, 2004
 4. Yoshinori Katakura, Eriko Nakata, Yukiko Tabira, Takumi Miura, Kiichiro Teruya, Toshie Tsuchiya, and Sanetaka Shirahata, Decreased Tumorigenicity In Vivo When Transforming Growth Factor β Treatment Causes Cancer Cell Senescence. *Biosci, Bioechnol. Biochem.* 2003, 67 (4), 815-821.
 5. atakura Y, Nakata E, Tabira Y, Miura T, Teruya K, Tsuchiya T, Shirahata S, Decreased Tumorigenicity In Vivo When transforming Growth Factor β Treatment Causes Cancer Cell Senescence, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2003, 67, 815-821.
 6. Jeong Ung Park and Toshie Tsuchiya, Tumor-Promoting Activity of 48 kDa Molecular Mass Hyaluronic Acid. *Materials Transactions*, 2002, 43, 3128-3130.
 7. Akira Ichikawa and Toshie Tsuchiya, Studies on the tumor promoting mechanism of hard and soft segment models of polyetherurethane: Tyr265 phosphorylation of connmexin43 is a key step in the GJIC inhibitory reaction induced by polyetherurethane. *J. Biomedical Materials Research*, 2002, 62,157-162.
 8. Akira Ichikawa and Toshie Tsuchiya, A strategy for the suppression of tumorigenesis induced by biomaterials: Restoration of transformed phenotype of polyetherurethane-induced tumor cells by Cx43 transfection. *Cytotechnology*, 2002 39, 1-8.
 9. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Studies on the mechanisms of tumorigenesis induced by polyetherurethane in rats: Production of superoxide, tumor necrosis factor, and interleukin 1 from macrophages cultured on different polyetherurethanes., *J. Biomed. Master. Res.* 2000, 49, 99-105.
 10. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Studies on tumor promoting activity of polyethylene immobilized with various proteins. *Biomedical Materials Research in Asia (IV)* 2000, pp.122-123.
 11. 土屋利江, 中村晃忠, 細胞間連絡阻害活性の重要性, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 2000, 118, 166-167.
 12. Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Effect of different implant materials on inhibition of gap-junctional intercellular communication as an index of tumour promotion. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies*, 1999, 74, 290-293.
 13. Toshie Tsuchiya, Sayed M. A. and Akitada Nakamura, Tumor promoting mechanisms of biomaterials: No involvement of mutation in cx43 gene in the tumorigenesis induced by polyurethanes in vitro., *Animal Cell Technology*, 1999, pp.181-185.
 14. Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, What initiates the formation of preneoplastic parent cells?, *IARC monographs of evaluation of carcinogenic risks of human., Surgical Implants and Other Foreign Bodies*, 1999, 74, 293-294.
 15. 土屋利江, 出川宏規, 中村晃忠, 細胞間連絡阻害活性の重要性, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 1998, 116, 204-206.
 16. 土屋利江 高分子材料のin vivo発癌プロモーション活性, 高分子論文集1998, 55 314-322.
 17. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Koichi Kato, Yoshito Ikada and Akitada Nakamura, Studies on tumor-promoting activity of polyethylene: inhibitory activity of metabolic cooperation on polyethylene surfaces is markedly decreased by surface modification with collagen but not with RGDS peptide. *J. Biomed. Master Res.* 1997, 35, 391-397.
 18. Toshie Tsuchiya, Ryusuke Nakaoka, H. Degawa and Akitada Nakamura, Studies on the mechanisms of tumorigenesis induced by polyetherurethanes in rats: Leachable and biodegradable oligomers involving the diphenylcarbamate structure acted as an initiator on the transformation of Balb 3T3 cells. *J. Biomed. Master. Res.* 1996, 31: 299-303.
 19. Toshie Tsuchiya, Atsushi Takahara, Cooper S. L. and Akitada Nakamura, Studies on the tumor-promoting activity of polyurethanes: Depletion of inhibitory action of metaboic cooperation on the surface of a polyalkyleneurethane. *J. Biomed, Master. Res.* 1995, 29, 835-841.
 20. Toshie Tsuchiya, Yoshiaki Ikarashi and Akitada Nakamura, Studies on the tumor-promoting activities

- of additives in biomaterials: Inhibition of metabolic cooperation by additives such as pigments and phenolic antioxidants. *J. Long-term Effects of Medical Implants*, 1995a, 5, 243-252.
21. Toshie Tsuchiya, Hideyo Hata and Akitada Nakamura, Studies on the tumor-promoting activity of biomaterials: Inhibition of metabolic cooperation by polyetherurethane and silicone. *J. Biomed. Master. Res.* 1995a, 29, 113-119.
22. Toshie Tsuchiya, K. Fukuhara, Hideyo Hata., Yoshiaki Ikarashi, Naoki Miyata, F. Katoh, H. Yamasaki and Akitada Nakamura, Studies on the tumor-promoting activity of additives in biomaterials: Inhibition of metabolic cooperation by phenolic antioxidants involved in rubber materials., *J. Biomed. Master. Res.* 1995, 29, 121-126.
23. Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, A new hypothesis of tumorigenesis induced by biomaterials: Inhibitory potentials intercellular communication play an important role on the tumor-promotion stage, *J. Long-term Effects of Medical Implants*, 1995, 5, 233-242.
24. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Studies on the tumor-promoting activity of polyethylene: Inhibitory activity of metabolic cooperation of polyethylene films containing an antioxidant. *J. Long-term Effects of Medical Implants*, 1995c, 5, 253-262.
- ### 発生毒性
1. Toshie Tsuchiya, Naoki Miyata, Shozo. Kamiya, Yoshiaki Ikarashi, Akitada Nakamura and Atsushi Takahashi, Developmental toxicity of butylated hydroxytoluene using rat and human embryonic cell assays. *AATEX*, 1995, 3, 1-8.
2. 土屋利江, ラット, マウス胎仔の肢芽および脳細胞, *組織培養*, 1994, 20, 369-372.
3. Toshie Tsuchiya, Yoshiaki Ikarashi, Akitada Nakamura, Methods for evaluating teratogenic activities of chemicals and serum fluids using micromass culture system, *AATEX*, 1992, 1, 165-171.
4. Toshie Tsuchiya, Kazuhiro Eto, Burgin Heinrich and Andreas Kistler, Micromass Culture of midbrain cells and its Relevance to in vitro mechanistic studies, *Cong. Anom.*, 1992, 32, 105-116.
5. Rudolf Bechter, Gerrard D. Terlouw, Masahiko Tsuchiya, Toshie Tsuchiya and Andreas Kistler, Teratogenicity of arotinoids (retinoids) in the rat whole embryo culture. *Arch Toxicol*, 1992, 66, 193-197.
6. 土屋利江, 培養細胞による催奇形性試験, *組織培養*, 191, 17, 412-418.
7. Toshie Tsuchiya, Atsushi Takahashi, Soichiro Asada, Fumie Takakubo, Noriko Yamashita- Ohsumi and Kazuhiro Eto, Comparative studies of embryotoxic action of ethylenethiourea in rat whole embryo and embryonic cell culture. *Teratology*, 1991, 43, 319-324.
8. Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura, Toshihiro Iio and Atsushi Takahashi, Species differences between rats and mice in the teratogenic action of ethylenethiourea: in vivo/ in vitro tests and teratogenic activity of sera using an embryonic cell differentiation system. *Toxicology and applied pharmacology*, 1991, 109, 1-6.
9. Toshie Tsuchiya, Heinrich Burgin, Masahiko Tsuchiya, Paul Winternits and Andreas Kistler, Embryo lethality of new herbicides is not detected by the micromass teratogen tests, *Arch Toxicol*. 1991, 65, 145-149.
10. 土屋利江, 血清中の催奇形性活性測定法の開発と宿主経由催奇形性活性および胎仔致死活性のin vitro試験法に関する研究, *衛生試験所報告*, 1991, 109, 244-246.
11. 土屋利江, In vitro催奇形性試験-embryoを用いる実験, *ファルマシア*, 1990, 26, 1126-1128.
12. Andreas Kistler, Toshie Tsuchiya, Masahiko Tsuchiya and Michael Klaus, Teratogenicity of arotinoids (retinoids) in vivo and in vitro, *Arch Toxicology*, 1990, 64, 616-622.
13. Toshie Tsuchiya, A. Ishida, Naoki Miyata, Atsushi Takahashi and Syozo Kamiya, Effects of 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole and its hydroquinone and quinone metabolites on rat and human embryonic cells in culture. *Toxic. In vitro*, 1988, 2, 291-296.
14. Toshie Tsuchiya, Atsuko Matsuoka, Setsuko Sekita, Takuzo Hisano, Atsushi Takahashi and Motoi Ishidate, Human embryonic cell growth Assay for teratogens with or without metabolic Activation system using microplate. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 1988, 8, 265-272.
15. Toshie Tsuchiya, Akira Tanaka, Masamichi Fukuka, Michio Sato and Tsutomu Yamaha, Metabolism of thiabendazole and Teratogenic potential of its metabolites in pregnant mice. *Chem. Pharm. Bull.* 1987, 35, 2985-2993.

16. Toshie Tsuchiya, Setsuko Sekita, Kiyotaka Koyama, Sinsaku Natori and Atsushi Takahashi, Effect of chaetochromin A, chaetochromin D and ustilaginoidin A, bis (naphtho-pyrone) derivatives, on the mouse embryo limb bud and midbrain cells in culture. *Cong Anom.*, 1987,27, 245-250.
17. Toshie Tsuchiya, Takuzo Hisano, Akira Tanaka and Atsushi Takahashi, Effects of benzimidazoles on mouse and rat limb bud cells in culture, *Toxicology letters*, 1987, 38, 97-102.
18. Toshie Tsuchiya and Akira Tanaka, Effects of thiabendazole on the mouse limb-bud organ and cell in culture. *Toxicology letters*, 1986, 30, 19-26.
19. Toshie Tsuchiya and Akira Tanaka, In vivo inhibition of adenosine triphosphate (ATP) synthesis associated with thiabendazole-induced teratogenesis in mice and rats. *Arch Toxicol.* 1985, 57, 243-245.

埋植試験

1. Yoshiaki Ikarashi, Kazuhiro Toyoda, Equo Kobayashi, Hisashi Doi, Takayuki Yoneyama, Hitoshi Hamanaka, Toshie Tsuchiya, Improved Biocompatibility of Titanium-Zirconium (Ti-Zr) Alloy: Tissue Reaction and Sensitization to Ti-Zr Alloy Compared with Pure Ti and Zr in Rat Implantation Study. *Materials Transaction*, 2005, 10, 2260-2267.
2. Tsuchiya T, Ikarashi Y, Uchima T, Doi H, Nakamura A, Ohshima Y, Fujimaki M, Toyoda K, Kobayashi E, Yoneyama T, and Hamanaka H, A method to monitor corrosion of chromium iron alloys by monitoring the chromium ion concentration in urine. *Mater Trans.* 2002, 43, 3058-3064.
3. Yoshiaki Ikarashi, Kazuhiro Toyoda, Naomi Ohsawa, Takao Uchima, Toshie Tsuchiya, Masa-aki Kaniwa, Michio Sato, Michihito Takahashi and Akitada Nakamura, Comparative studies by cell culture and in vivo implantation test on the toxicity of natural rubber latex materials, *Journal of Biomedical Materials Research*, 1992, 26, 339-356.
4. T. Bouet, Kazuhiro Toyoda, Yoshiaki Ikarashi, T. Uchima, Akitada Nakamura, Toshie Tsuchiya, M. Takahashi and R. Eloy. Evaluation of biocompatibility, based on quantitative determination of the vascular response induced by material implantation. *J. Biomedical Materials Research*, 1991, 25, 1507-1521.

エンドトキシン

1. Haishima Y, Hasegawa C, Yagami T, Tsuchiya T, Matsuda R, Hayashi Y, Estimation of uncertainty in kinetic-colorimetric assay of bacterial endotoxins. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 32(3), 495-503.
2. Nakagawa Y, Murai T, Hasegawa C, Hirata M, Tsuchiya T, Yagami T, Haishima Y, Endotoxin contamination in wound dressings made of natural biomaterials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2003, 66(1), 347-55.

分析, DEHP等

1. Yuji Haishima, Fumie Seshimo, Tae Higuchi, Haruko Yamazaki, Chie Hasegawa, Shun-ichiro Izumi, Tsunehisa Makino, Keisuke Nakahashi, Rie Ito, Koichi Inoue, Yoshihiro Yoshimura, Koichi Saito, Takeshi Yagami, Toshie Tsuchiya, Hiroyuki Nakazawa, Development of a simple method for predicting the levels of di (2-ethylhexyl) phthalate migrated from PVC medical devices into pharmaceutical solutions, *Int J Pharm*, 2005, 14; 298(1), 126-142.
2. Rie Ito, Fumie Seshimo, Yuji Haishima, Chie Hasegawa, Kazuo Isama, Takeshi Yagami, Keisuke Nakahashi, Haruko Yamazaki, Koichi Inoue, Yoshihiro Yoshimura, Koichi Saito, Toshie Tsuchiya, Hiroyuki Nakazawa, Reducing the migration of di-2-ethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride medical devices, *Int J Pharm*, 2005, 303 (1-2), 104-112.
3. Yuji Haishima, Rie Matsuda, Yuzuru Hayashi, Chie Hasegawa, Toshie Tsuchiya, Risk assessment of di (2-ethylhexyl) phthalate released from PVC blood circuits during hemodialysis and pump-oxygenation therapy. *Int. J. Pharm.* 2004, 274 (1-2), 119-129.

ナノマテリアル

1. Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Atsuko Matsuoka, Ryusuke Nakaoka, and Toshie Tsuchiya, Different effects of [60] fullerene brain injection and i.p. injection on the brain monoamine and behavior in the rats., *J. of Nanoscience and Nanotechnology* 2008 8, 1-9.
2. 土屋利江, 粒子特性評価法及び毒性評価法—in vitro, 「ナノ粒子・微粒子の毒性評価研究の動向と暴露対策の現状」技術情報協会, 2007 pp371-380.
3. Eiji Okada, Yuka Komazawa, Masaaki Kurihara, Hideshi Inoue, Naoki Miyata, Haruhiro Okuda, Toshie

- Tsuchiya and Yoko Yamakoshi, Synthesis of C60 derivatives for photoaffinity labeling, *Tetrahedron Letters* 2004, 45, 527-529.
4. 土屋利江, “微粒子工学大系 第II巻 応用技術”, 無機微粒子の安全性と生体適合性, フジ・テクノシステム, 2002, 743-748
 5. Ryusuke Nakaoka and Toshie Tsuchiya, Studies on the Biocompatibility of Biomaterials: Effect of Various Types of Biomaterial Microspheres. Proc. Fourth Pacific Rim Int. conf. On Advanced Materials and Processing (PRICM4), The Japan Institute of metals, 2001, 189-191.
 6. Kazuo Isama and Toshie Tsuchiya, Change in the Particle Size Distribution of poly (L-lactide) Wear Debris by γ -Ray Irradiation. *Bull. Natl. Inst. Health Sic.* 2001, 119, 61-64.
 7. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Keisuke Sakaguchi and Akitada Nakamura, Studies on in vitro evaluation for the biocompatibility of various biomaterials: Inhibitory activity of various kinds of polymer microspheres on metabolic cooperation. *J. Biomed Mater Research*, 2001, 57, 279-284.
 8. Toshie Tsuchiya, I. Oguri, Y. Nakajima-Yamakoshi and N. Miyata, Effect of [60] fullerene on the chondrogenesis in mouse embryonic limb bud cell culture system. *Fullerene Science & Technology* 1996, 4, 989-999.
 9. Toshie Tsuchiya, I. Oguri et al. Novel harmful effects of [60] fullerene on mouse embryos in vitro and in vivo. *FEBS Letters* 1996, 393, 139-145.
 10. Toshie Tsuchiya, Yoko Nakajima Yamakoshi and Naoki Miyata, A novel promoting action of fullerene C60 on the chondrogenesis in rat embryo limb bud cell culture system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 206, 885-894.
 11. 土屋利江, 宮田直樹, C60フラーレンの軟骨分化促進活性, 炭素クラスターニュース, 1995, 3, 60-61.
- 夫, 土屋利江, 人工関節の不具合要因解析 第2報 人工股関節, 臨床バイオメカニクス学会発表
4. 迫田秀行, 脇谷滋之, 天正恵治, 鄭徳泳, 佐藤道夫, 土屋利江, 微小試験片を用いた高密度架橋ポリエチレンの疲労特性評価, 臨床バイオメカニクス学会発表
 5. 植松美幸, 有田 誠, 岩崎清隆, 田中 隆, 太田友博, 梅津光生, 土屋利江, 頸静脈に対するガイドワイヤおよびダイレータの挿入角度による血管穿孔可能性を評価する試験法の構築, 人工臓器学会発表
 6. 柳楽 勤, 土屋利江, メカニカルストレスに対する細胞応答の分子機構, 大森豊明, 生体物理刺激と生体反応, フジテクノシステム, 667-677, 2004.

細胞組織医療機器

1. 澤田留美, 松岡厚子, 松田良枝, 土屋利江: ヒト間葉系幹細胞のin vitro培養期間中の変化について, —c-mycをターゲットとした遺伝子発現解析と染色体異常解析—薬学雑誌 受理
 2. 土屋利江: 細胞組織再生品のガイドライン, 進みつづける細胞移植治療の実際 (下巻) —細胞移植治療の現状とその周辺要素の理解—, メディカルドゥ, 大阪 (2008), pp236-243.
 3. Tomomi Ito, Rumi Sawada, Yoko Fujiwara, Toshie Tsuchiya, FGF-2 increases osteogenic and chondrogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells by inactivation of TGF- β signaling. *Cytotechnology* 2008,56, 1-7.
 4. Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Toshie Tsuchiya: Intracerebral microinjection of stannous 2-ethylhexanoate affects dopamine turnover in cerebral cortex and locomotor activity in rats. *Journal of Biomaterial Materials Research: Part B-Applied Biomaterials* accepted 2008.
 5. Ito T, Sawada R, Fujiwara Y, Seyama Y, Tsuchiya T., FGF-2 suppresses cellular senescence of human mesenchymal stem cells by down-regulation of TGF-beta2, *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 359, 1, 108-114.
 6. 土屋利江, ティッシュエンジニアリングとガイドライン, ティッシュエンジニアリング2007, 岡野光夫, 田畑泰彦編, 2007, 241-244 日本組織工学会監修, 日本医学館.
 7. 澤田留美, 伊藤友美, 土屋利江, 細胞組織利用医療機器に用いられる幹細胞の品質および安全性評価について, 薬学雑誌, 2007, 127, 5, 851-856.
 8. 土屋利江: 細胞組織医療機器開発総論, 薬学雑誌, 127, 847-850 (2007).
- バイオメカニクス・疲労特性・耐久性試験**
1. 迫田秀行, 鄭徳泳, 脇谷滋之, 天正恵治, 佐藤道夫, 土屋利江, 人工関節の不具合要因分析, 臨床バイオメカニクス学会誌 受理
 2. 迫田秀行, 鄭徳泳, 脇谷滋之, 天正恵治, 佐藤道夫, 土屋利江, 微小試験片を用いた人工関節用UHMWPEの疲労特性評価, 臨床バイオメカニクス学会誌 査読中
 3. 迫田秀行, 脇谷滋之, 天正恵治, 鄭徳泳, 佐藤道

9. D.Y. Jung, Y.B. Kang, T. Tsuchiya, S. Tsutsumi, A novel non-destructive method for measuring elastic moduli of cultivated cartilage tissues *Key Engineering* 2007, 342-343, 853-856.
10. Masato Tamai, Kazuo Isama, Ryusuke Nakaoka and Toshie Tsuchiya, Synthesis of novel β -tricalcium phosphate/hydroxyapatite biphasic calcium phosphate containing niobium ions and evaluation of osteogenic properties. *J Artif Organs*. 2007;10 (1): 22-28.
11. Rumi Sawada, Tomomi Ito and Toshie Tsuchiya, Changes in expression of genes related to cell population in human mesenchymal stem cells during in vitro culture in comparison with cancer cells. *J. Artificial Organs*, 2006, Vol. 9, 179-184.
12. Masato Tamai, Ryusuke nakaoka, Kazuo Isama, Toshie Tsuchiya, Novel calcium phosphate ceramics: The remarkable promoting action on the differentiation of the normal human osteoblasts, *Bioceramics*, *Key Material Eng.* 2006. Vol. 309-311, 97-100.
13. Masato Tamai, Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, In vitro study on the osteogenesis of normal human osteoblasts cultured on the discs of various kinds of calcium phosphate ceramics, *Archives of Bioceramics Research.*, 2005, 5, 158-161.
14. Misao Nagahata, Ryusuke Nakaoka, Akira Teramoto, Koji Abe, Toshie Tsuchiya, The response of normal human osteoblasts to anionic polysaccharide polyelectrolyte complexes, *Biomaterials*, 2005, 26(25), 5138-44.
15. Kazuo Isama, Toshie Tsuchiya, Osteoblast Differentiation and Apatite Formation on Gamma-Irradiated PLLA Sheets, *Key Engineering Materials*, 2005 288-289, 409-412.
16. 石黒 (長幡) 操, 寺本 彰, 阿部康次, 中岡竜介, 土屋利江, ラット頭蓋冠由来骨芽細胞のALPase活性を促進する硫酸化ヒアルロン酸の効果, *繊維学会誌 (報文)*, 2005, 61, 98-102.
17. 土屋利江, 再生医療・繊維工学・人工臓器に使用される医療用材料の安全性・有効性に関する基本的考え方, *繊維学会誌 (繊維と工業)*, 2005, 61, 148-149.
18. Toshie Tsuchiya, A useful marker for evaluating the safety and efficacy of tissue engineered products, *Tissue Engineered Medical Products*, 2004, 254-261.
19. 土屋利江, 第7章 再生医療とその周辺 再生医療をとりまく規制とその現状・今後, 立石哲也, 田中順三, 図解 再生医療工学, 工業調査会, 296-303, 2004.
20. 土屋利江, 細胞組織医療機器等の品質・安全性確保について, *再生医療*, 2004, 3巻, 2月号, 107-110.
21. 土屋利江, 細胞組織医療機器等の製品化のためのガイドライン・環境整備について, *高分子*, 2004, 53巻, 3月号, 144-146.
22. 土屋利江, ティッシュエンジニアリング用マテリアルの製品化条件と国際標準化, *再生医療*, 2004, 3巻, 5月号, 71-75.
23. 土屋利江, 再生医療とその周辺 再生医療をとりまく規制とその現状・今後, 立石哲也, 田中順三, 図解 再生医療工学, 工業調査会, 2004, 296-303.
24. 伊佐間和郎, 土屋利江, 金属製医用材料のヒト骨芽細胞の骨分化機能に及ぼす影響評価. *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 2003, 121, 111-112.
25. Kazuo Isama, Toshie Tsuchiya, Enhancing effect of poly (L-lactide) on the differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells, *Biomaterials*, 2003, 24, 3303-3309.
26. J. Yang, A. Ichikawa, T.Tsuchiya, A novel function of connexin 32: Marked enhancement of liver function in a hepatoma cell line. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, 307, 80-85.
27. Nakaoka R, Tsuchiya T, Nakamura A, Neural differentiation of midbrain cells on various protein-immobilized polyethylene films. *J Biomed Mater Res*, 2003, 64A, 439-446.
28. Isama K, T Toshie, Enhancing effect of poly (L-lactide) on the differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *Biomaterials*, 2003, 24, 3303-3309.
29. Jeong Ung Park and Toshie Tsuchiya, Increase of Gap Junctional Intercellular communication by High Molecular Weight Hyaluronic Acid Associated with FGF-2-and KGF-Production in Normal Human Dermal Fibroblasts. *Tissue Engineering*, 2002, 8, 419-427.
30. Toshie Tsuchiya, Yuka Itahashi, Tomoko Ichikawa and Akira Ichikawa, Studies on the biocompatibility of artificial organs and tissue engineered products: Embryonic neuronal cell differentiation on the various kinds of biodegradable polymers. *Animal Cell Technology*, 2002, 12, 253-256.
31. Muhammad Shahidur Rahman, Toshie Tsuchiya, Effects of biomaterials and nutrient factors on chondrogenesis of human chondrocytes. *Animal Cell Technology*, 2002, 12, 235-239.
32. Muhamad Shahidur Rahman and Toshie Tsuchiya,, Enhancement of Chondrogenic Differentiation of

- Human Articular Chondrocytes by Biodegradable Polymers. *TISSUE ENGINEERING*. 2001, 7 (6), 781-790.
33. Takumi. Miura, Yoshinori. Katakura, Katsuhiko. Yamamoto, Norihisa. Uehara, Toshie Tsuchiya, Sanetaka Shirahata, Neural stem cells loses telomerase activity upon differentiation into astrocytes. *Cytotechnology* 2001, 36, 137-144.
 34. Muhammad Shahidur Rahman, Toshie Tsuchiya, In vitro culture of human chondrocytes (1): A novel enhancement action of ferrous sulfate on the differentiation of human chondrocytes. *Cytotechnology*, 2001, 37, 163-169.
 35. Toshie Tsuchiya, A useful marker for evaluating the tissue engineering products: gap junctional communication for assessment of the tumor-promoting action and desruption of cell differentiation in the tissue engineering products., *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.*, 2000, 11, 947-959.
 36. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya, Masa-aki Kaniwa and Akitada Nakamura, Activation of osteoblast-like MC3T3-E1 cell responses by poly (lactide). *Biol. Pharm. Bull.* 2000, 23, 1470-1476.
 37. Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Effect of heat treatment of poly(L-Lactide) on the response of osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *Biomaterials*, 2000, 21, 1259-1267.
 38. Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura, Oshima Yuichi et al., Chondrogenic cellular responses to titanium and zirconium alloys in vitro., *Tissue Engineering*. 1998, 4: 197-204.
 39. Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura, Research and regulatory situation of tissue engineering in Japan. *Tissue Engineering* 1997, 3, 105-108.
 40. 石川 格, 澤田留美, 山田貴史, 佐藤道夫, 土屋利江他, 新規無血清培地STK2におけるヒト間葉系幹細胞の増殖能評価, 再生医療学会発表 (2008.3).
- 材料—細胞相互作用**
1. Takashi Yamada, Rumi Sawada and Toshie Tsuchiya, The effect of sulfated hyaluronan on the morphological transformation and activity of cultured human astrocytes. *Biomaterials* 2008, 29/26 3503-3513.
 2. Saiffudin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Misao Nagahata-Ishiguro, Rumi Sawada, Nasreen Banu and Tsutomu Nagira, Remarkable enhancing action by sulfated hyaluronan on Connexin-26, -32, and -43 gene expressions during the culture of normal human astrocytes, *Journal of Biomedical Materials Research:Part A*, in press.
 3. Banu N, Tsuchiya T, Sawada R., Effects of a biodegradable polymer synthesized with inorganic tin on the chondrogenesis of human articular chondrocytes., *J Biomed Mater Res A*. 2007, 82, 1, 263-264.
 4. Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya, Markedly different effects of hyaluronic acid and chondroitin sulfate-A on the differentiation of human articular chondrocytes in micromass and 3-D honeycomb rotation culture. *J. Biomed. Mater. Res.* 2007, 80, 257-267.
 5. 土屋利江, 再生医療製品のギャップ結合細胞間連絡機能評価の重要性について, 再生医療技術の最前線, 岡野光夫, 大和雅之監修, 2007, pp241-248. シーエムシー出版
 6. Tsutomu Nagira, Misao Nagahata-Ishiguro and Toshie Tsuchiya, Effects of sulfated hyaluronan on keratinocyte differentiation and Wnt and Notch gene expression. *Biomaterials* 2007, 28, 844-850.
 7. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Enhancement of differentiation and homeostasis of human osteoblasts by interaction with hydroxyapatite in microsphere form, *Bioceramics, Key Material Eng.* 2006, Vol. 309-311, 1293-1296.
 8. Yuping Li, Tsutomu Nagira, Toshie Tsuchiya, The effect of hyaluronic acid on insulin secretion in HIT-T15 cells through the enhancement of gap junctional intercellular communication, *Biomaterial*, 2006. 27, 1437-1443.
 9. Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya, Rumi Sawada, Effects of biodegradable polymer synthesized with inorganic tin on the chondrogenesis of human articular cartilage, *J Biomed Mater Res*, 2006, 77, 84-89.
 10. Nasreen Banu, Yasmin Banu, Masamune Sakai, Tadahiko Mashino, Toshie Tsuchiya, Biodegradable polymers in chondrogenesis of human articular chondrocytes, *J Artif Organs*, 2005, 8(3), 184-191.
 11. Tsutomu Nagira, Susan Bijoo Matthew, Yoko Yamakoshi, Toshie Tsuchiya, Enhancement of Gap Junctional Intercellular Communication of Normal Human Dermal Fibroblasts Cultured on Polystyrene Dishes Grafted with Poly-N-isopropylacrylamide

- (PIPAAm), *Tissue Engineering*, 2005, 11(9-10), 1392-1397.
12. Ryusuke Nakaoka Saifuddin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Hydroxy apatite microspheres enhance gap junctional intercellular communication of human osteoblasts composed of connexin 43 and 45, *J Biomed Mater Res A*, 2005, 74(2), 181-6.
 13. Nagahata M, Tsuchiya T, Ishiguro T, Matsuda N, Nakatsuchi Y, Teramoto A, Hachimori A, Abe K, A novel function of N-cadherin and Connexin43: marked enhancement of alkaline phosphatase activity in rat calvarial osteoblast exposed to sulfated hyaluronan. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004, 315(3), 603-11.
 14. Taizo Sumide and Toshie Tsuchiya, Effect of multi-purpose solutions (MPS) for hydrogel contact lenses on gap-junctional intercellular communication (GJIC) in rabbit corneal keratocytes. *J. Biomedical Materials Research Applied Biomaterials*, 2003, 64B, 57-64.
 15. Ryusuke Nakaoka and Toshie Tsuchiya, Biocompatibility of Various Kinds of Polymer Microspheres Estimated from Their Effect on Gap Junctional Intercellular Communication of Fibroblasts. *Mater. Trans*. 2002, 43, 3122-3127.
 16. 中岡竜介, 土屋利江, 微粒子状物質の骨分化機能影響, *Bioindustry*, 2002, 7, 14-20.
 17. 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 土屋利江, γ 線照射ポリ乳酸の表面解析と骨芽細胞機能影響, *Bioindustry*, 2002, 7, 21-29.
 18. 土屋利江, 生分解性高分子材料の軟骨分化機能等への影響, *Bioindustry*, 2002, 7, 30-37.
 19. Kazuo Isama and Toshie Tsuchiya, Effect of γ -ray irradiated poly (L-lactide) on the differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*. 2002, 13, 153-166.
 20. Jeong Ung Park and Toshie Tsuchiya, Increase in gap-junctional intercellular communications (GJIC) on normal human dermal fibroblasts (NHDF) on surfaces coated with high molecular weight hyaluronic acid (HMWHA), *J. Biomedical Materials Research*, 2002, 60, 541-547.
 21. 土屋利江, 中岡竜介, 朴正雄, 市川明, 細胞によるバイオマテリアルの評価法, *バイオインダストリー*, 2001, 10, 81-93.
 22. Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura, The inhibitory mechanism of gap junctional intercellular communication induced by polyethylene and the restorative effects by surface modification with various proteins *J. Biomed Mater Research*, 2001, 57, 567-574.
 23. Taizo Sumide, Toshie Tsuchiya, Evaluation of chemical disinfectants for hydrogel contact lenses by metabolic cooperation assay. (Japanese) *J. of Japanese Society for Biomaterials*, 2001, 19, No. 3, 93-97.