

令和元年6月16日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01434

研究課題名(和文) コンビネーション医療機器の革新的評価法の構築

研究課題名(英文) Innovative evaluation methods of chemical afent combination apparatus

研究代表者

山崎 正志 (Yamazaki, Masashi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：50281712

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：骨固定力を強化した体内固定用ネジ：Ap-FGF スクリューを開発した。世界初の成長因子コンビネーション体内固定用ネジとして医療機器としての承認を目指す。医師主導治験を行うために、以下の残る課題を解決しつつ、レギュラトリーサイエンスとしてコンビネーション医療機器の革新的評価法を構築する。

骨粗鬆症において最低保証強度・強度信頼性を明確にする力学試験のWeibull解析による評価法の開発 凍結乾燥技術の開発とその製造法・品質管理法の確立 凍結乾燥Ap-FGF スクリューフィジビリティ試験 また研究成果を公表することにより我が国のコンビネーション医療機器の開発に資することも目的とする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コンビネーション製品の開発において、よく検証された新たな評価法が必要であるとする発想は過去にない。既承認医療機器に既承認医薬品を添加する場合でも、新たに付加された治療効果は未知のものと捉え、各々の既存の評価法のみで安全性を保証しないことがこの分野の新技术開発に重要であることを本研究で示した。また、研究成果を随時企業や他の開発者が参照できるようにすることで、世界的には出遅れた我が国のコンビネーション製品開発を加速させる効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We developed screws coated with fibroblast growth factor-2 (FGF-2) - apatite composite layers. We aim to obtain the approval of this growth factor combined screw. The object of this study was to clarify the evaluation method of combination medical equipments.

The risk of impaired bone formation was evaluated using the Weibull plot analysis. Establishment of the freeze-dry method and its quality control. Clinical trial (Feasibility study)

研究分野：整形外科 脊椎外科

キーワード：コンビネーション医療機器 品質評価 脊椎インプラント

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

医薬品と医療機器を組み合わせたコンビネーション製品は海外で先進的に開発され、多くの製品が実用化されている。医療機器に薬剤を添加することにより新たな治療効果が創出され、難治症例の治療が可能となりつつある。一方、開発時に予期できなかった合併症により製造販売が中止になった海外製品もいくつかある。rhBMP コラーゲン含有脊椎固定用ゲージは、発がん性および過剰骨形成が問題となり、適応を慎重に選ぶべきとの報告が多くなされている。我が国ではコンビネーション製品の適切な開発と規制のためにガイドライン作成が進められおり（厚生労働省革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業）、我々も 2012 年から医療機器分野-整形・歯科領域コンビネーションプロダクトガイドライン素案作りに関わってきた。その中で、コンビネーション医療機器では、付加された治療効果をそれぞれ評価する**新たな評価法**を確立することが開発段階で最も重要であることが明らかとなった。

### 2. 研究の目的

本提案では我々が開発した**世界初の成長因子コンビネーション体内固定用ネジとして期待される線維芽細胞増殖因子-2 徐放性ハイドロキシアパタイトコーティングスクリュー (Ap-FGF スクリュー)**の革新的評価法を構築することを目的とする。本研究ではスクリューの力学評価として **Weibull 解析**が骨固定材料の有用性評価に適するかを検証する。

### 3. 研究の方法

(1)骨粗鬆症において、デバイスの**最低保証強度・強度信頼性を明確にする力学試験の Weibull 解析評価法の開発**：家兔脛骨創外固定ピン刺入モデルを用い、チタンスクリュー（コーティングなし）・アパタイトコーティングスクリュー・Ap-FGF スクリューの抜去トルク値の Weibull plot を作成、群間比較により各群の破壊モードの差異を検討する。結果を組織及び画像解析による骨形成量とも照らし合わせ、最低保証強度や強度信頼性を示し得るかを検証する。

研究 1：デバイスの**最低保証強度・強度信頼性を明確にする Weibull 解析**を用いた力学データ評価法の開発を行う。

#### 1.1 倫理委員会承認

#### 1.2 家兔モデルにおけるスクリューの力学試験

対象：成熟雄日本白色家兔 70 羽 140 肢

チタンスクリュー群（コーティングなし）・

Ap スクリュー群（ハイドロキシアパタイトのみコーティング）

Ap-FGF スクリュー群 の 3 群とする。



#### 1.2.1 スクリュー作成(コーティング)

Ap スクリューおよび Ap-FGF スクリューを作成し、Ap 組成・FGF 持存量および活性を評価以下の実験を行う。

#### 1.2.2 動物実験

上記の 3 群すべてセラクター・ケタミン麻酔下に両側脛骨結節より各スクリュー刺入、（挿入トルク測定・Xp）、刺入後 4 週目に評価を行う。

① 力学試験（抜去トルクの測定）

② 骨固着および骨形成画像評価(X 線,  $\mu$  CT)、③抜去後ネジの顕微鏡評価（コーティング膜剥奪の有無）、④組織評価（抜去後骨および軟部組織標本:骨形成量測定）

#### 1.2.3 抜去トルクの Weibull 解析

抜去トルク値の Weibull plot を作成、群間比較により各群の破壊モードの差異を解析し、骨形成量との関連も検討する。挿入/抜去トルク比も解析する。

(2)凍結乾燥技術開発 :Ap-FGF スクリューを実用化するには製品を凍結乾燥する技術の追加が必要である。凍結乾燥による FGF-2 の失活率を 10%以下に抑え、コーティング品質の安定化を図る。また凍結乾燥製品の製造法と品質管理法（GMP 準拠）を確立する。

## 研究 2

凍結乾燥による FGF-2 の失活率を 1 ヶ月間 10%以下に抑え、使用時に至適な FGF-2 担持量および活性を持つ凍結乾燥条件を決定する。現在までに確立した製造法で Ap-FGF スクリューコーティングを行い、凍結乾燥する際に以下の項目につき検討する。

2.1 コーティング条件の違いによる FGF 活性の差異：コーティング温度、浸漬液の pH の最適化

2.2 安定化剤の検討：白糖、トレハロース、L-アルギニン、L-ヒスチジンなどを候補として検討

2.3 フリーズドライ条件に関する検討：冷却温度、冷却速度、容器など

2.4 GMP 準拠製造法（文書作成）および品質管理法の確立

2.5 コーティング作製実証実験：CPF において 2.4 の作成法により Ap-FGF コーティングおよび凍結乾燥を行う。所定の品質検査を行い、規格を満たす合格製品が連続 3 回製造できるのをもって製造法安定とする。製造工程は常に 3 人で行い、すべての工程を検証できるよう記録する。

### (3) 凍結乾燥 Ap-FGF スクリューフィジビリティ試験（臨床）

Ap-FGF 椎弓根スクリューの臨床での Proof of Concepts 取得および凍結乾燥 Ap-FGF スクリューの基本的な臨床安全性の確認を行う。医師主導治験の際に採用する評価項目の見極め・必要症例数の推定と評価プロトコル策定を目的とする。

#### 研究 3 凍結乾燥 Ap-FGF スクリューフィジビリティ試験（臨床）

3.1 GMP 準拠凍結乾燥製品作成および品質管理手順書作成・運搬手順書作成

3.2 臨床試験プロトコルの作成：

3.3 倫理委員会承認：

3.4 患者募集：

対象：頸椎の後方固定術が適応になった基礎疾患のない成人患者 10 例

3.5 試験実施 3.2 に従い、試験を行う。

実施場所：筑波大学附属病院

方法：頸椎最下位に 2 本の Ap-FGF 椎弓根スクリュー刺入/その他はコーティングなしのスクリューを使用

<主要評価項目>

Ap-FGF 椎弓根スクリューに起因する有害事象：神経障害（-3 ヶ月）、術後感染症（-2 週）

<副次的評価項目>（術前，2w, 3mo, 6mo, 1y）

術前骨塩量，術後 CT：スクリューの弛み、術後単純 X 線（坐位/仰臥位）：椎間可動性(>10 度），

スクリュー周囲 Clear zone, VAS, 患者立脚型臨床評価(ODI, SF-36), 採血検査

術後 3,6,12 ヶ月のスクリュー周囲骨形成量, MRI

## 4. 研究成果

### 研究 1

ワイブル統計法のスクリュー強度固着評価への応用について、家兎モデルを用いた解析を論文にまとめて投稿した。成熟雄日本白色家兎 70 羽 140 肢の脛骨近位に経皮的に Ap-FGF コーティング (Ap-FGF 群)、Ap コーティング (Ap 群)、non コーティング (Ti 群) チタンスクリューを挿入し 4 週で抜去し、組織評価 (HE 染色) で炎症を認めない 52 羽 67 肢に対して、スクリュー抜去後の骨組織でスクリューの骨被覆率を計測した。3 群を更に FGF (-): Ti+Ap、及び FGF (+): Ap-FGF の 2 群に纏め検討した。統計学的検討には t 検定および Weibull 分析を用いた。<結果>骨被覆率の平均値は FGF (+): 88.6 ± 4.4% (n=35) で FGF (-): 83.0 ± 9.5% (n=32) より有意に高かった (p=0.017)。FGF (+) 群の骨被覆率は 0.79~0.94 の狭い範囲に集中するのに対して、FGF (-) 群の骨被覆率は 0.64~0.98 で低骨被覆率側にすそ野を引く分布であり、骨被覆の不良発生確率が高いことを示した。そこで、骨被覆率 63%以下を骨形成不良と定義して骨形成不良出現確率を Weibull 分析で求めたところ FGF (+): 2.7x10<sup>-4</sup>, FGF (-): 0.05 (Ti: 0.05, Ap: 0.06) となった。なお Weibull 分布は直線であった。<考察および結論>FGF (+) と FGF (-) の骨被覆の平均値では 65%の差であっても骨形成不良出現率では FGF (+) が FGF (-) の約 1/600 という低値となる。FGF2 を含む Ap-FGF コーティングには安定した骨形成作用があり、スクリュー周囲の

骨形成不良のリスク率を大幅に低減できる事が示された。

#### 研究 2

凍結乾燥条件は実験により確定したが、製造法ノウハウに関する事項であり、報告書での公表は差し控える。

臨床研究で使用する椎弓根スクリューを選定し、その椎弓根スクリューに我々が独自に定めた品質規格を満たすコーティングを施すためのコーティング実証実験を繰り返し、コーティング層の作成手順と手順書を確立した。品質試験についてもより精度を高めるための検討を行い、プロトコルを確定させた。各種 QMS 文書を作成した。手順書に従って臨床研究用の製品を GMP 準拠施設：CPF(Cell Processing Factory)で製造して品質規格を満たすかの検討（プレラン）を行った。

#### 研究 3

前向き自主臨床試験として、筑波大学附属病院において「頸椎疾患に対する長範囲後方固定術における Ap-FGF2 コーティング頸椎椎弓根スクリューの安全性評価のための探索的試験」を開始した。対象患者は頸椎長範囲後方固定術（頭側が第 2 または第 3 頸椎かつ尾側が第 7 頸椎または第 1 胸椎のもの）の適応となる男女で目標症例数は 10 例とした。試験期間は全期間における最短期間は 1 年間、最長期間は 1 年 3 ヶ月とした。前観察期間は最短 1 週間程度、最長 3 ヶ月程度である。入院期間は最短 2 週間、最長で 3 ヶ月程度と予想され、後観察期間は術後 1 年間とした。主要評価項目は、Ap-FGF 椎弓根スクリューに起因する死亡、骨折、悪性腫瘍、神経障害、術後感染症等の臨床試験中に発生したすべての有害事象の有無とした。筑波大学附属病院輸血部内 cell processing factory (CPF) で無菌的に ApFGF スクリューコーティングを行った。現在のところすべてのスクリューで品質規格を満たした。プロトコルを論文として発表予定である。試験は 3 症例組み込まれ、現在実施中である。また臨床研究法に対応して、特定臨床研究として申請・承認された (jRCTs031180078)。

### 5. 主な発表論文等

#### 〔雑誌論文〕 (計 1 件)

Reducing the risk of impaired bone apposition to titanium screws with the use of fibroblast growth factor-2-apatite composite layer coating

Kengo Fujii, MD; Atsuo Ito, PhD; Hiroataka Mutsuzaki, MD, PhD; Shinji Murai, MD; Yu Sogo, PhD; Yuki Hara, MD, PhD; Masashi Yamazaki, MD, PhD

Journal of Orthopaedic Surgery and Research, 2017, 1-9 査読あり

#### 〔学会発表〕 (計 2 件)

FGF-2 (線維芽細胞成長因子) 担持アパタイトコーティング創外固定ピンのコーティング層の安全性の検討 柳澤洋平、原友紀、山崎正志 ほか

第 90 回日本整形外科学会学術集会 2018 年 5 月

FGF-2 担持アパタイトコーティングチタンスクリューの安定した骨形成作用

藤井賢吾、伊藤敦夫、原友紀、六崎裕高、村井伸司、柳澤洋平、長島 克弥、松本佑啓、野口裕史、小林文子、十河友、山崎正志

2016 年 10 月 13 日～ 2016 年 10 月 14 日 第 31 回 (2016 年) 日本整形外科学会基礎学術集会 福岡国際会議場・福岡県・博多市

#### 〔図書〕 (計 0 件)

#### 〔産業財産権〕

##### ○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

##### ○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：原 友紀  
ローマ字氏名：Yuki Hara  
所属研究機関名：筑波大学  
部局名：医学医療系  
職名：講師  
研究者番号（8桁）：30431688

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：伊藤敦夫  
ローマ字氏名：Atsuo Itou  
研究協力者氏名：六崎裕高  
ローマ字氏名：Hiroataka Mutsuzaki  
研究協力者氏名：橋本幸一  
ローマ字氏名：Kouichi Hashimoto  
研究協力者氏名：山本信行  
ローマ字氏名：Nobuyuki Yamamoto  
研究協力者氏名：藤井賢吾  
ローマ字氏名：Kengo Fujii  
研究協力者氏名：柳澤洋平  
ローマ字氏名：Yohei Yanagisawa  
研究協力者氏名：松本佑啓  
ローマ字氏名：Yukei Matsumoto  
研究協力者氏名：長島克弥  
ローマ字氏名：Katsuya Nagashima  
研究協力者氏名：十河 友  
ローマ字氏名：Yu Sogo  
研究協力者氏名：小林文子  
ローマ字氏名：Fumiko Kobayashi

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。