

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業  
事後評価報告書

公開

## I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 眼接触型医療機器の品質及び安全性評価手法の高度化に関する研究  
(英語) Study on advancement of quality and safety evaluation methods for ocular  
contact medical devices

研究開発実施期間: 令和 3 年 4 月 1 日～令和 6 年 3 月 31 日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 山本 栄一  
(英語) Eiichi Yamamoto

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:  
(日本語) 国立医薬品食品衛生研究所・医療機器部・部長  
(英語) Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences

## II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

(日本語)

本研究では、カラーコンタクトレンズ（カラーCL）及びセンサー内蔵型 CL の品質及び安全性向上、開発促進に資する新規評価法として、CL に特化した細胞毒性試験法、化学分析を用いた溶出物試験法及び内蔵センサーの物理的安全性評価法を検討した。また、CL 型標準材料を用いて、CL の品質評価法となり得る摩擦試験法及び CL の家兎眼装用試験を代替する再構築ヒト角膜様上皮モデルを利用した *in vitro* 眼刺激性試験法を開発した。

CL に特化した新規細胞毒性試験法の開発に関する研究では、再構築ヒト角膜モデルを利用した新規細胞毒性評価法を検討した。再構築ヒト角膜モデルの LabCyte CORNEA-MODEL を用いて、炎症誘発性サイトカインを指標として、zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) や zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC) を含有するエチレンプロピレンゴム（EP ゴム）を標準陽性対照物質として用いる細胞毒性評価法のフィージビリティを確認した。

色素やセンサーが CL 表面に露出している場合、物理的刺激に基づく眼障害が発生し得るため、眼障害との関連性を踏まえたリスク評価に資する実使用条件を模した試験系による当該刺激要因の検討が必要となる。そこで、物理的刺激の要因として CL の摩擦特性を想定し、当該特性を適切に評価するために従来法とは異なる生体使用条件を模した振子式摩擦係数測定装置による新規試験系を構築し、摩擦特性と眼障害との関連性を考察した。

各種条件を最適化した振子式摩擦係数測定装置を用いた測定系による検討の結果、飛行時間型二次イオン質量分析（TOF-SIMS）によるカラーCL 表面における単純な色素露出の有無と当該表面の摩擦係数との間に相関は見られなかった一方、摩擦係数の増大においては一定以上の表面粗さが影響することが示唆された。そこで、各種 CL の表面状態を膨潤状態のまま観察可能な手法を探索し摩擦係数との関連性を検討すると共に、人為的に凹凸を付与した CL の摩擦係数を測定することで、品質及び安全性に及ぼす CL の表面品位及び摩擦係数との関連性について検討した。同一メーカー作製の色素不含有及び含有 CL で摩擦係数に差があった製品の表面を白色干渉顕微鏡により観察したところ、摩擦係数が増大した一部のカラーCL 表面においては色素露出に起因すると考えられる隆起物が観察された。さらに、同程度の隆起物を有し摩擦係数が大きい無色 CL も存在したこと、人為的に一定の隆起を付与した CL での摩擦係数が大きくなったことからその摩擦特性への関連が示唆された。以上の結果から、今回開発した振子式摩擦係数測定装置は実使用条件を模した条件で CL を測定可能であり、その結果は様々な CL の品質、特に表面品位の評価に使用可能であることが明らかとなった。

近年、IT 技術の発展に伴い、CL 型ウェアラブル IoT 医療機器の開発が加速している。これらの医療機器は、その特性上、従来の CL と異なる材料が利用されていることから、溶出する化合物は多様であると共に、その安全性は未知の部分が多い。CL の生物学的安全性試験パッケージの一つとして要求される遺伝毒性試験では、必要に応じて *in vivo* 評価を行う。これらの背景から、本課題では毒性学的懸念の閾値の概念に基づき、遺伝毒性物質を対象とした分析試験法を開発した。

「毒性学的懸念の閾値」の概念における除外規定化合物群のうち、N-ニトロソ化合物及びアゾキシ化合物を網羅的に検出する試験法の構築を行なった。いずれの化合物群も、質量分析計を用いた直接的な網羅的検出が困難であるため、化学プローブを利用した検出法の構築を目指した。また、化学プローブ候補 2 種について、

多数の対象化合物を利用して有用性を検証した。いずれの化学プローブも両化合物群を検出できる可能性を示した。

従来、医療機器の眼刺激性はウサギを用いた Draize 試験により評価されているが、動物福祉を推進すること等から、in vitro 代替法の開発が急務である。そこで、本分担課題では、再構築ヒト角膜様上皮（RhCE）モデルを利用した in vitro 眼刺激性試験法を開発した。

まずは Genapol 含有シリコンレンズ（試験モデルレンズ）を対象として、既に化学物質の眼刺激性評価に対してガイダンス化されている OECD TG 492 のプロトコルを基に、RhCE モデルを利用した医療機器用のプロトコルを作成した。さらに市販品であるカラーCL 及びセンサー内蔵型 CL を対象として、当該試験プロトコルが適切な評価をくだせるか検証したところ、いずれのレンズでも刺激性に関して再現性良く期待通りの判定がなされ、当該試験の有用性が示された。一方、濃度の異なる Genapol 含有シリコンレンズに対する当該試験による判定と動物試験の結果を比較したところ、in vivo 試験よりも当該試験の方が検出感度が高いことが判明した。これらのことから、当該試験法が眼刺激性試験の動物実験代替法として有望であることが示唆された。

家兎眼装用試験と in vitro 評価法との相関性評価に関する研究では、摩擦試験と in vitro 眼刺激性試験を組み合わせた家兎眼装用試験動物実験代替法の構築を目指した。in vitro 摩擦試験法については、これまでのカラーCL の摩擦係数と色素露出に関する評価結果、兎の瞬きの回数等を考慮し、CL の性能及び品質検証の評価系として、再現性、頑健性評価について研究班を進めるのが望ましいと判断されたことから、RhCE モデルを利用した in vitro 眼刺激性試験と in vivo 家兎眼刺激性試験との相関性について検討を行った。異なる濃度の Genapol-X080 を含有させた CL 型標準材料を検体として、生理食塩液及びゴマ油抽出液を用いて家兎眼刺激性試験を実施し、RhCE モデルを利用した in vitro 評価法との相関性を評価した。RhCE モデルを利用した in vitro 眼刺激性試験に比べて刺激性が低く、本標準材料においては、再構築ヒト角膜様上皮モデルの感度が高いことが示された。

センサー内蔵型 CL における物理的安全性評価方法を開発においては、目を擦る際のセンサー内蔵型 CL にかかる圧縮負荷を想定し、繰り返し負荷をかけた場合に機能不全に至るまでの荷重と繰り返し負荷回数との関係の評価する方法開発・評価し S-N 曲線を作成した。荷重と繰り返し負荷回数に相関があることを確認し、物理的負荷を繰り返しかけることにより本来の機能が発揮できないことを明確にし、通常の CL とは異なる性能の基準、評価方法が必要であることを確認した。また、機能不全となったセンサー内蔵型 CL について、破壊状況の詳細を確認するため、X 線 CT での撮像条件を検討した。内部センサーの破壊および CL 表面への金属等のセンサー構造物の露出を確認したが、センサー構造物の露出は確認されず、目を擦る負荷により機能不全にいたったとしても、患者への大きな害にはいたらない可能性が高いことが判明した。

標準材料の開発に関する研究においては、材質、レンズの物理的パラメータ、色素の有無が異なる CL 型標準材料を摩擦試験に供した。また、刺激性強度の異なる CL 型標準材料を準備し、in vitro 眼刺激性試験法の性能検証並びに家兎眼装用試験に供した。得られた成果は家兎眼装用試験代替法の開発に寄与することが期待される。

(英 語)

We developed new evaluation methods for color contact lenses (CLs) and sensor-embedded CLs to improve their quality and safety and to promote their development, including a CL-specific cytotoxicity test method, a physical safety evaluation method for CLs with sensors, and a leachate test method using chemical analysis. In addition, we developed a friction test method using CL-type standard materials that could serve as a quality evaluation method for CLs, and an in vitro ocular irritation test method using a reconstructed human corneal-like epithelial (RhCE) model to replace the house rabbit eye wear test for CLs.

A novel CL specific cytotoxicity assessment method using a reconstructed human cornea model was investigated. the feasibility of a cytotoxicity assessment method of the LabCyte CORNEA-MODEL RhCE model with zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) and zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC) as standard positive control substances, using inflammation-inducing cytokines as indicators, was confirmed. The feasibility of the cytotoxicity assay using ethylene propylene rubber as a standard positive control was also confirmed.

Because it is anticipated that the physical irritation on cornea associated with pigments or sensor exposure of CL surface may cause ocular damage to the wearer, we evaluated friction property of CL as one possible factor to induce the irritation using a pendulum-type apparatus which enables to mimic its actual usage condition. In this study, we developed a novel pendulum-type apparatus with an inclinometer, and optimized apparatus features and measurement condition to simulate actual usage condition of CL. Although we evaluated exposure of pigments on various CLs surface by TOF-SIMS, their friction coefficients measured by our apparatus did not show relationship with the exposure. On the other hand, surface protuberance was observed by white interference microscopy on some CLs which showed relatively high friction coefficient, irrespective of pigment exposure on CL surface, suggesting relationship between presence of protuberance and high friction coefficient of CL. Therefore, measurement of its friction coefficient can be used to evaluate quality, especially surface quality of CL.

In recent years, the development of CL-type wearable medical devices has accelerated with the development of information technology. Due to their characteristics, these medical devices use materials that are different from traditional CLs, and the variety of compounds that are eluted makes ensuring their safety a concern. Genotoxicity tests, which are required as part of the biological safety testing package for CLs, are performed in vivo as needed. In this study, we developed an analytical test method for genotoxic substances based on the concept of a 'threshold of toxicological concern'.

We have developed a test method to comprehensively detect N-nitroso and azoxy compounds that are excluded from the 'threshold of toxicological concern' concept. Since direct and comprehensive detection by mass spectrometry is difficult for both groups of compounds, we aimed to establish an analysis method for detection with derivatization. The usefulness of two candidate chemical probes were verified using a large number of target compounds. Both chemical probes showed the potential to detect both groups of compounds.

Conventionally, the ocular irritation properties of medical devices have been evaluated by the Draize test using rabbits. Recently, however, from the viewpoint of animal welfare, there is an urgent need to develop an in vitro method to replace this method. In this study, we developed an in vitro ocular irritation test method using a RhCE model.

We validated whether the eye irritation test protocol using the RhCE model developed for medical devices is appropriate for evaluating Genapol-containing silicone lenses (test model lenses), commercially available color CLs, and CLs with built-in sensors. The results showed that all lenses were reproducibly determined to be as expected with respect to irritancy. In addition, comparison of the using RhCE model in vitro test judgments and animal test results for silicone lenses containing different concentrations of Genapol showed that in vitro test has higher detection sensitivity than in vivo test, suggesting that in vitro test using RhCE model is a promising alternative to animal testing for ocular irritation.

To evaluate the correlation between the rabbit eye wear test and in vitro evaluation methods, we aimed to construct an alternative animal test method for the rabbit eye wear test by combining the friction test and the in vitro eye irritation test. Considering the results of the evaluation of the friction coefficient and pigment exposure of colored CLs, the number of blinks of rabbits, etc., it was judged that it would be desirable for the research group to proceed with the evaluation of reproducibility and robustness as an evaluation system to verify the performance and quality of the CLs. The correlation between the in vitro ocular sting test and the in vivo rabbit ocular irritation test was investigated. The correlation between the in vitro ocular irritation test using the RhCE model and the in vivo rabbit ocular irritation test was evaluated. The results showed that the sensitivity of the RhCE model was higher in this standard material with lower irritation.

Furthermore, we investigated a physical safety evaluation method for sensor-embedded CLs. Assuming a compressive load applied to the sensor-embedded CLs when rubbing the eyes, a method to evaluate the relationship between the load and the number of cycles of repeated loading until malfunction occurs when repeated loading is applied. The S-N curve was developed and evaluated. It was confirmed that there was a correlation between the load and the number of repeated loadings, and it was clarified that the original function could not be demonstrated by repeatedly applying a physical load, and that different performance criteria and evaluation methods from those for normal CLs were necessary.

In addition, the imaging conditions of X-ray CT were examined for the CLs with built-in sensors that malfunctioned, in order to confirm the details of the destruction situation. The destruction of the internal sensor and the exposure of metal and other sensor structures on the surface of the contact lens were confirmed, but no exposure of the sensor structures was observed and it was found that even if the contact lens malfunctioned due to the load of eye rubbing, it was highly likely that it would not cause significant harm to the patient.

CL-type materials with different physical properties, and CL with or without pigments were

prepared and subjected to tests performed in the studies. CL-type standard materials with different irritation intensity were also prepared and used to verify the performance of the in vitro eye irritation test method and for rabbit eye-wear tests. The obtained results are expected to contribute to the development of an alternative method for rabbit eye wear test.