



再生歯科医学の将来とマイクロマシンによる新しい歯科分野の開拓

大阪歯科大学 歯科理工学講座

主任教授 今井 弘一

近年の再生医学は幹細胞研究で飛躍的な発展を遂げています。従来、特定の複数種の細胞にしか分化できない体性幹細胞や組織幹細胞とも呼ばれる成体幹細胞を使用する再生医療技術の開発が多かったのですが、iPS細胞の開発で再生医療のターゲットが障害を受けた組織や臓器を人工的に作って、患者に移植することが近未来に実現できる可能性が大きくなりました。今回、新しい再生医療の研究ターゲットとしてこの目的のために開発しなければならない技術目標をまとめました。さらに、歯科における再生医療の特殊性についても述べました。また、幹細胞は再生歯科医学の開発のみならず分化障害を指標としての生物学的評価にも用いられます。細胞を使用した生物学的評価は動物実験代替法として近年世界的にも着目されています。最後に歯科の隆盛を目指してマイクロマシンなどを用いた新しい歯科分野開拓の提案をさせていただきます。

1. 新しい再生医療の研究ターゲット

1981年にケンブリッジ大学とカリフォルニア大学でマウス由来のES細胞が初めて開発され、当時社会的に大変評判になりました¹⁾。発生の初期段階である胚盤胞期の内部細胞塊より作られる胚性幹細胞（ES細胞）を活用した再生医療の研究が始まりました。その後、マウスからヒトに応用するため、マウス以外の各種の動物由来の細胞でも樹立が試みられました。1998年にはヒト由来のES細胞も樹立されました²⁾。しかし、ヒト由来のES細胞の使用には倫理的な問題がありました。ES細胞は21世紀になってからも細胞培養の技術が非常に発展し、基本的な培養方法は京都

大学再生医科学研究所の山中伸弥教授ら³⁾によって樹立された人工多能性幹細胞（iPS細胞）培養に応用されています。iPS細胞はES細胞培養で長年培われてきた培養経験や技術が使えるため速い発展が期待されています。

ヒト由来のiPS細胞は、最新の再生医療の基本的な技術開発の主役として現在数多くの研究機関で競争で研究されています。最新の再生医療は患者の皮膚や粘膜から細胞を採取し、患者由来のiPS細胞を作成した後、損傷を受けた組織や臓器を、iPS細胞から細胞増殖と細胞分化を繰り返し、目的の組織や臓器の細胞に成熟した多量の細胞を高次構築して、最終的に患者の損傷した組織や臓器と交換することを目的としています（図1）。この場合、対象となる技術は、1）iPS細胞作製技術によって細胞分化する初期段階に戻した細胞を、正確に目的の組織や臓器の細胞パーツとして増殖・分化させる技術、2）移植する患者の細胞と同じ速度でしか細胞増殖しないと移植時までに患者が死亡する可能性もあるため、特急速度で細

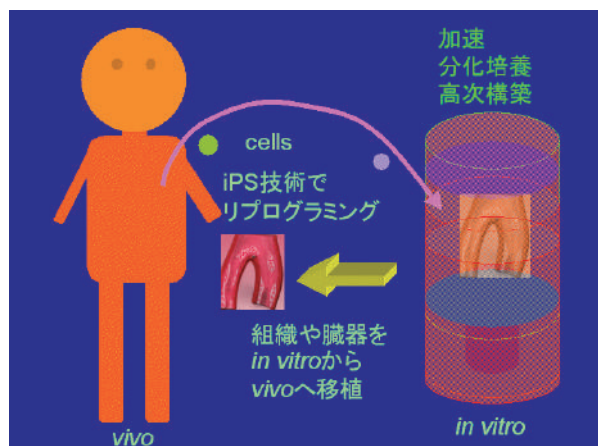


図1 究極の再生医療
(ヒト iPS 細胞を細胞分化して得られた組織や臓器の移植)

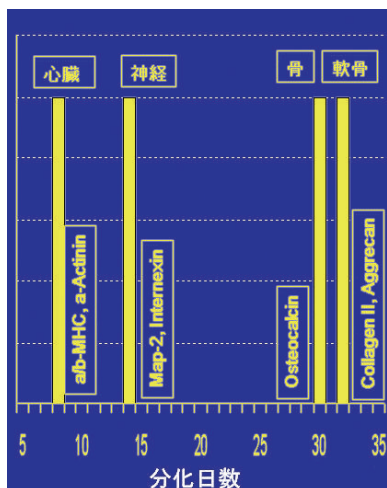


図2 マウスES細胞が細胞分化して得られる組織や臓器の分化日

胞増殖と細胞分化をさせる技術、3) 適切に目的の臓器や組織の細胞へ分化した細胞パーツを組織や臓器に高次構築させる技術、4) 安全性の点で、BSEやウイルスの危険性のあるウシなどのヒト以外の動物の血清でなく、患者自身の血清あるいは無血清を含めた血清代用物を化学合成する技術、5) 現在、マウスでも骨を作るまでに1ヶ月間にわたって培養を継続する必要があります(図2)。そのため、長期培養環境でも変性しない培養スキャフォードの開発。など克服しなければならないハードルは非常に高いと考えます。

1) iPS細胞分化の方向性の制御

ES細胞(図3)は発生初期段階の細胞であるため、理論上すべての組織に分化する分化多能性があります。ES細胞を分化させると、いわゆるテラトーマ(図4)と称される体を構成しているすべての細胞が混在した細胞集団が得られます。

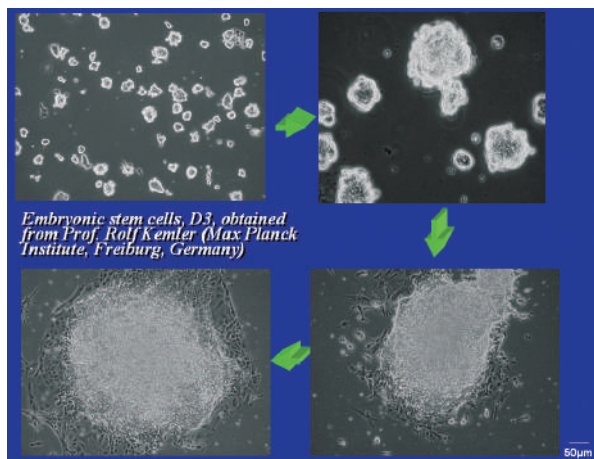


図3 マウスES細胞のES-D3細胞
(左上:播種1日後, 右上:播種3日後, 右下:播種6日後, 左下:播種7日後)

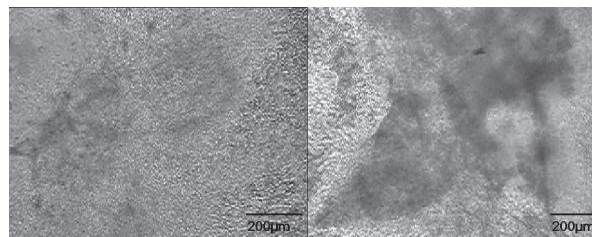


図4 ES細胞から分化したテラトーマ像

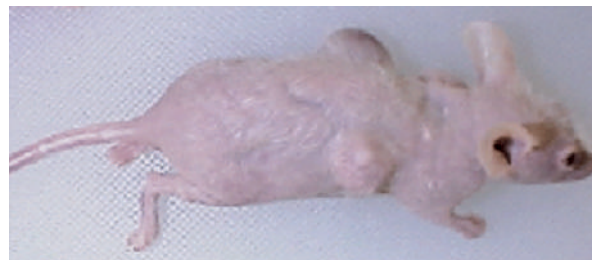


図5 免疫不全マウスの皮下に移植したES-D3細胞による腫瘍形成

この中には特定の組織や臓器ももちろん混在していますが、その大きさや構成は非常にバリエーションに富み、その中で作られた滅茶苦茶な細胞の塊を医療として患者に移植して機能させることは極めて困難であります。筆者が2000年に行った実験で、ES細胞を高い細胞濃度で免疫不全マウスの皮下に注射すると、徐々にマウス皮下が膨らみはじめ、3週間程度で小豆大の腫瘍が形成されます(図5)。マウスの腹腔内に入れても腫瘍が形成されますが1ヶ月以上放置するとマウスは死に至ります。しかし、3週間以内に腫瘍を取り出した場合にはマウスは2年以上も生存し天寿を全うします。同じように癌細胞をマウスに移植した場合には、腫瘍の取り出しに成功してもマウスは死にますが、ES細胞の場合には手術で腫瘍を取り出した後のマウスの寿命に何ら問題は生じません。また、iPS細胞(図6)でも基本的にES細胞

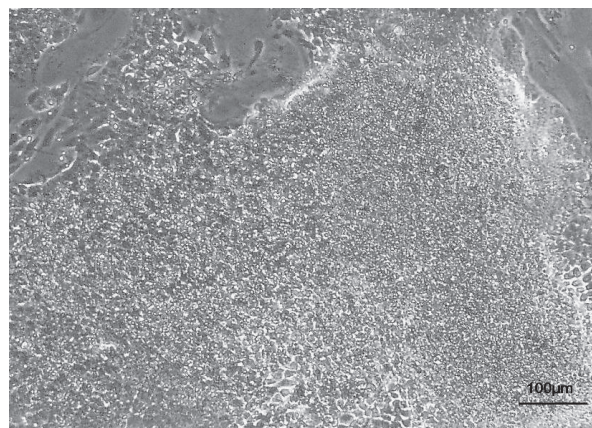


図6 マウスiPS細胞

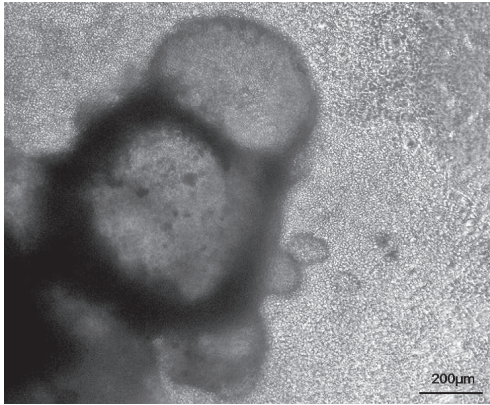


図7 マウスiPS細胞から分化したテラトーマ像

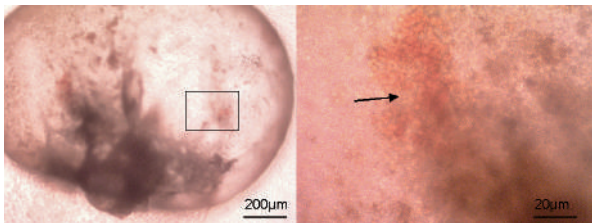


図8 マウスES細胞から赤血球への細胞分化像（矢印）

胞と同様に細胞分化してテラトーマ（図7）を作ります。

問題は細胞分化の方向性がコントロールできなければ特定の組織や臓器を形成する細胞が効率的に得られないことです。テラトーマには、脳や心筋、腱、肝臓、神経、赤血球（図8）など多様な細胞が散見できますが、偶然が支配しているような状況で、すべて均等な割合で見られません。しかし、iPS細胞を特定の細胞に絞って分化させる技術は急速に進んでいます。複数の遺伝子を導入したり化学物質を入れたりする研究や、凍結などによって障害を受けた組織や臓器に接触させて細胞分化の方向性をコントロールする方法など、数多くのアイデアが試されています。いずれにせよ試行錯誤の連続で膨大な数の研究が競合して実施されている最中です。

2) 細胞増殖や細胞分化の加速技術

特定の組織や臓器を作るためには細胞分化と同時に細胞増殖も必要となります。一般的に細胞の増殖は細胞が有糸分裂するM期の他に間期があり、これはDNA合成を準備するG₁期、DNAを複製するS期やG₂期に分けられます。以前から細胞培養実験などに多用されてきた株細胞は、通常の細胞培養を継続する過程で染色体に異常を生じさせた細胞で、染色体の構成が正常の場合と異

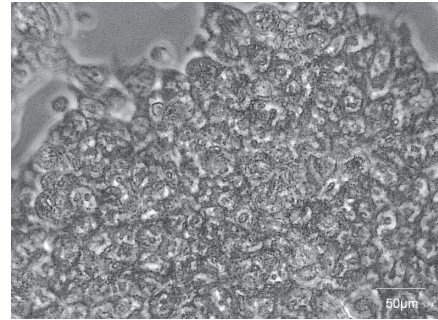


図9 突然に異常な増殖を始めた細胞

なって半永久的に分裂を繰り返すいわゆる不死化細胞となります（図9）。この細胞は増殖速度も速く、安定している細胞ですが、染色体が元の細胞の染色体が変化している部分によっては細胞本来の性質も大幅に変わり、元の動物体内に入れると非常に危険な細胞です。染色体に変化が及ばない細胞増殖の加速技術は未知の領域です。細胞培養温度などの培養環境の改良の他に、細胞別になります細胞増殖を促進する各種の化学物質も見つかっています。しかし、細胞増殖と細胞分化は基本的に相反することが多く、両者を両立させて加速する技術は基本的に老化や若返りの研究にもつながりますが、1) 項より研究の進展が遅れています。

3) 組織や臓器を高次構築する技術

組織や臓器をiPS細胞から作る場合に最も難関とされる技術です。iPS細胞で細胞分化の出発点に戻してバラバラにしたものを、再度、組み立てできなければ折角のiPS技術も無意味になります。iPS細胞の技術ではないのですが、歯の場合は、数年前に東京理科大の辻孝教授らがマウスの歯胚の上皮細胞と間葉細胞から再生歯胚を移植し歯を作ることに成功しています。したがって、iPS細胞から歯を作ることも近未来には十分可能と考えられます。

複雑な組織や臓器を作る場合、ガスや栄養などの運搬のこともあり血液やリンパ液などの流れを考慮しなければなりません。そのため血管内皮細胞などを使って複雑な血管網などを構築する必要があります。さらに臓器によっては細胞に極性が存在するものも多数あります。例えば肝臓や腎臓では細胞の極性（方向性）を逆に取り付けると正常な機能が発揮できないことが判明しています。さらに、臓器として機能を発揮させる細胞のみな

らず、その他大勢組のいわゆるバックヤードの細胞も十分配慮し構築する必要があると考えられます。臓器の形をしたスキャフォードや培養方法の研究も数多くされていますが、複雑すぎて人工的な高次構築は当面無理と考える場合もあります。

しかし、朗報もあります。ある程度大ざっぱな組織構造を体内に入れると、生体内の細胞間コミュニケーションの機能などによって細かい場所は自動的に作られると考える楽観論もあります。細胞を団子状にして臓器もどきを作っている先進の研究もあります⁴⁾。しかし、どのくらい大ざっぱなもので良いかという基本的な移植の生体寛容度の研究はまだ何もされていません。

4) ヒト血清または血清代用物質の開発

現在ほとんどの細胞培養ではウシやウマなど動物由来の血清を培養液に混入して使用しています。従来の細胞培養技術では血清を用いない場合は細胞の接着や増殖が不可能とされてきました。一部には無血清培養可能なように無血清環境に馴化させた特殊な細胞種も存在しましたが、一般的な細胞培養には5%や10%の血清添加は不可欠でした。ヒトの体内では血管周囲などを除いて、細胞培養で使用されているほど血清濃度が高くないことが知られています。また、高い血清濃度は細胞増殖は向上しますが、成体幹細胞の場合には逆に細胞分化に大きな障害となることも判明しています。しかし、ES細胞やiPS細胞の場合には、細胞分化に高濃度の血清添加が必要となります。ヒトの再生医療で使用される細胞の場合にはBSEやウイルス等の問題があるためウシなどヒト以外の動物の血清を使用しない方向で研究が進んでいます。患者の血液を使用するのが最も近道ですが、患者個人の細胞を使用するとは限らない場合もあることから、現在ではiPS細胞のnon feeder培養と長期継代培養が可能な無血清培養液も販売されています。無血清培養液の中には血清成分を含む場合もあることや、純粋な無血清培養では細胞培養がやや難しいなど、いくつかの課題がありますが1-5)項目の中で最も研究開発が進んでいる分野と考えられます。

5) 長期培養で変性しない培養スキャフォードの開発

従来の2次元培養ではなく、現在では細胞間コミュニケーションが生体内環境に近い形で得られる3次元培養が一般的になっています。さらに、発展して長期間の時間軸を入れた4次元培養も可能となってきました。従来はブタ由来のコラーゲンゲルが多く用いられてきましたが、細胞を再生医療器具としてヒトに応用する場合にはウイルスの問題から、魚由来のいわゆるマリンコラーゲンや合成コラーゲンなどが開発されています。これらはすでに化粧品などの成分として一般的に市販されています。この中で人工的に合成されたコラーゲンでは、自然のコラーゲンのような3重らせん構造に合成することは非常に難しいとされています。したがって、ヒトからかけ離れた生物界の位置にあります魚由来のコラーゲンが着目されています。しかし、低温の海に生息する魚由来のコラーゲンを使用した場合、哺乳類由来のものと異なり37℃の環境下で容易に変性するため長期培養が難しい点が挙げられています⁵⁾。培養液は交換可能ですが、細胞を含むスキャフォードは培養途中で交換するのは難しいからです。現在、テラピアなどの熱帯魚由来のコラーゲンを使用することを試みて長期培養にも成功しています^{6, 7)}。コラーゲンゲルのみならず乾燥したスポンジ状のコラーゲンは繊維の配向等も自由に制御できるため人工臓器の製造には最も適していると考えられます。また、培養器については従来の炭酸ガスインキュベーターではなく、生体の血液循環ようにスキャフォード内で培養液を人工的に拍動還流させる方式も検討しています。

2. 再生歯科医療の特殊性

歯科領域では古くから補綴材料による修復によって歯や口腔の諸機能が代替されています。歯科では人工材料が独自に発展し、薬剤が主役の一般医科領域と比べて人工材料の存在意義が非常に大きいことが挙げられます。歯科における再生医療は、前段で述べましたiPS細胞やES細胞を使って組織や臓器を作り移植する医療の必要性も否定できません。しかし、これらの難しい技術を駆使しなくとも人工材料で機能修復が有る程度可能で

あるため、特定の複数種の細胞にしか分化できない成体幹細胞を使用する再生医療技術が、歯科における再生医療の対象になりやすいと考えます。さらに、歯科分野の研究開発では工学部出身者が多く、彼らは各種のバイオマテリアル開発経験が豊富で再生歯科領域へ応用が可能な提案が多いことが再生歯科研究者へ刺激となっています。また、細胞接着研究の成果から材料表面の形態が細胞分化あるいは細胞増殖にも影響することが判明していますので、それを利用して目的の細胞機能を発揮させるために表面構造をインテリジェントにコントロールすることが可能となってきました⁸⁾。さらに表面構造のみならず、細胞増殖や細胞分化をターゲットとしたナノあるいはサブミクロン単位の大きさのインテリジェントな材料の開発も可能となってきました。このように再生歯科医療分野では人工材料開発と再生医療は二人三脚で研究されています。

歯科における再生医療の対象は硬組織だけではなく、歯周組織や舌、あるいは唾液までも再生の対象になります。機能的には味覚や他の口腔に備わっている諸感覚も再生対象になります。しかし、歯科における再生医療の多くは、一般医科の場合のようにほぼ健康な状態から組織再生させるのではなく、すでに病原菌に冒された病的な状態からの組織再生が多くなります（図10）。また、人工材料を併用しなければならないような現実的に難しい場合が多いのも事実です。さらに口腔内環境は細菌の存在やpH変動、あるいは咬合力の問題など極めて劣悪な環境と戦わねばなりません。このように再生歯科医療では一般再生医療と異なる特殊性があります。したがって一般医科領域と歯

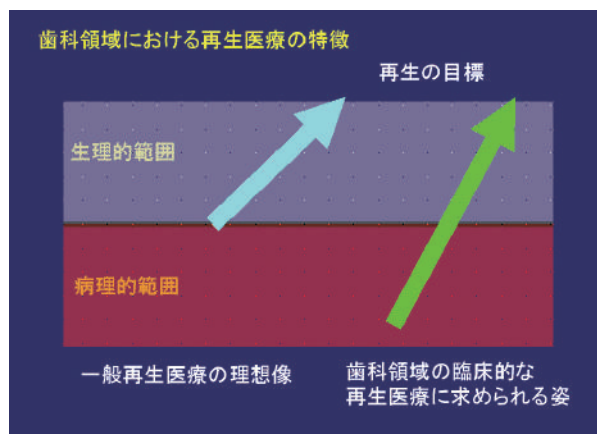


図10 病原菌に冒された病的な状態からの組織再生

科における再生医療の発展の方向性は、患者のQOLを目指すことは同じですが、手段がやや解離し異なってくると考えます。

3. ES細胞を使用した歯科材料の生物学的評価

再生歯科医療でiPS細胞はES細胞と同様な培養法で細胞分化が評価できる可能性があります。しかし、iPS細胞はES細胞とは異なり細胞分化の時間的なタイミングにバラツキが発生する場合があります（図11）、生体材料の安全性評価に使用する場合には、培養法の歴史が浅く、安定的な細胞分化や細胞増殖方法が十分に確立されていないヒト由来の細胞を使用するメリットは必ずしも大きくありません。マウス由来のES細胞は、ヒト由来のものと異なり、一定量のLIF（白血病細胞増殖阻害因子：Leukemia Inhibitory Factorの略）を培地に加えることで細胞分化することなく細胞増殖を無限に続けられます。なおLIFを除去した培地と交換することで、ES細胞の細胞分化が直ちに開始されます。しかも細胞分化時間のバラツキも少ないため、扱いやすく倫理的にも問題が少ないマウス由来のES細胞は生物学的評価に使用しやすいのが事実です。

さらに、ES細胞では成体幹細胞と異なり、あらゆる組織や臓器に分化することができるため、化学物質などによる細胞分化の方向性も検討できる可能性があります。逆に細胞分化の障害する場合には発生毒性などの特殊毒性を評価することもできます（図12）。

歯科で使用される生体材料や薬剤の成分および

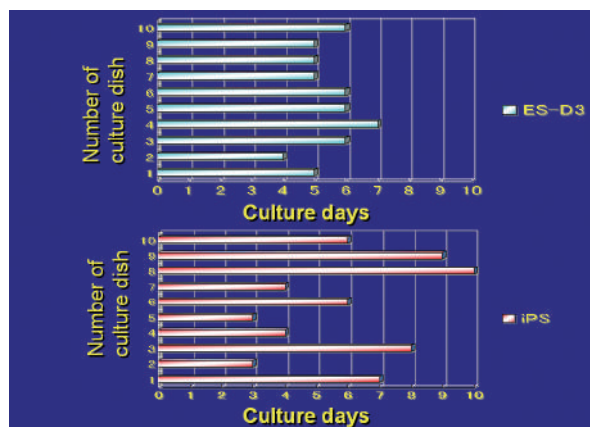


図11 マウスES細胞、マウスiPS細胞からできた各テラトーマ内における心筋分化に伴う鼓動発生開始日のばらつき

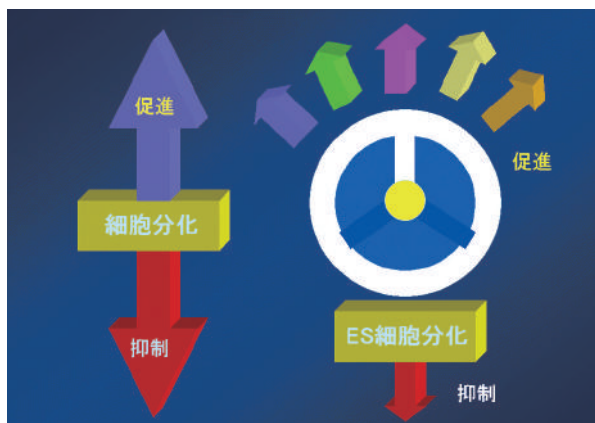


図12 ES細胞の細胞分化の方向性の制御による再生医療の研究と、細胞分化の抑制による生物学的安全性評価への利用

その代謝産物は各臓器のみならずヒト胎児へ移行して、ヒト胎児や新生児に比較的長期にわたってさまざまな影響及ぼす可能性があります。

ヒトの生殖・発生に対する毒性、すなわちヒト胎児への催奇形性の誘発が未だ十分に確認されていない化学物質も隠れて多数存在する可能性も必ずしも否定できません。しかし、一般的な細胞毒性とは異なりデータは非常に乏しく、現段階では必ずしも系統的な解明がなされいるとはいえないのが事実です。

ドイツ連邦のSpielmannらによって開発された *in vitro* 発生毒性試験法である Embryonic Stem Cell Test (以下、EST法)⁹⁾ は、マウス由来のES細胞であるES-D3細胞などの細胞分化障害と細胞毒性レベルを指標とした新しい試験法で、従来の動物実験と比較して短時間で原因物質の特定やその解析が容易であることから、欧米各国の研究機関で互いに評価データを比較して評価法の正確性を実証するいわゆるバリデーションテストが終了し、ヒトの催奇形性データとの高い関性や再現性についても国際的に認められています¹⁰⁻¹²⁾。

筆者らはこの方法を用いて各種の歯科用モノマーおよび歯科用合金組成などが発生毒性に及ぼす影響をEST法で調べました。

24種の歯科用モノマー (Bis-GMA,UDMA,Bis-MPEPP,TEGDMA,2.0-EPMA,3.0-EPDMA,4.0-EPDMA,1.6-ADMA,1.8-ADMA,1.10-ADMA,6-HHMA,Bis-GMA(6F),MEPC,ホスマーM, BPE-1300,BSNa,EDMABA,GAM,GMAGMR,MTYA,NPG,PTNa,QTX) をEST法を用いて調べましたEST法のprediction modelのⅠ、ⅡおよびⅢ式に、基本プロトコルに基づき、ES-D3細胞の

ID₅₀とIC₅₀、および3T3細胞のIC₅₀の3つのパラメータを代入し3段階発生毒性レベルに分類しました。その結果、Bis-GMA,UDMA,Bis-MPEPP, TEDMA,Bis-GMA(6F), 6-HHMA, MTYAではClass 2、すなわち、"weak embryotoxicity"でした。一方、他のモノマーではClass 1、すなわち、"non embryotoxicity"であることが判明しました。結果から、コンポジットレジンに含まれるBis-GMAを始めとするモノマーにはやや発生毒性があることが判明しました¹³⁾。

歯科用合金組成金属の中から、Ag,Co,Cr,Cu,Hg, In, Ni, Pd, Sb, Sn, VおよびZnの12種について原子吸光測定用標準試薬を用いてEST法で発生毒性試験した結果、六価のCrイオンとHgイオンがclass 3、すなわち"strong embryotoxicity"であった。さらに、In,Sn,Sb,Vはいずれも"weak embryotoxicity"であったが、他の金属イオンでは"non embryotoxicity"の範疇であった。さらに、Ag, Co, Cr, NiおよびPdについては、各金属粉末を培地で直接に抽出した試験液で行ったところ、Agのみ"weak embryotoxicity"と判断し、やや発生毒性の存在が認められたが他の金属イオンでは"non embryotoxicity"の範疇であった¹⁴⁾。したがってイオンの抽出条件によってやや差が認められた。Hgイオンは強い発生毒性の存在が示されたが、現在、歯科でアマルガムは使用されないため歯科医師や患者がHgに暴露される機会は少ない。また、六価のCrでも強い発生毒性が認められたが、同じCrでも三価ではCuと同程度の"non embryotoxicity"である。歯科用コバルトクロム合金や歯科用銀合金では合金表面に強固な不動態膜ができるため、合金組成イオンの口腔内溶出は極めて微量で、これらの歯科用合金から溶出する金属イオンが発生毒性に及ぼす影響はほとんど無視できるものと考えます。

4. EST法の改良

医薬品や生体材料の生体安全性試験の中で正常なヒト胎児の発生に影響を及ぼす生殖・発生毒性試験法の開発は重要である。新規の化学物質によるヒトの発生への影響を*in vitro*でスクリーニングできるEST法は、未知の化学物質についても催奇形性が予知できる可能性が示唆されています。

しかし、マウス由来の細胞であるES細胞とBulb c/3T3細胞を使用することから、ヒトの代謝の影響が結果に反映されないことが最大の欠点とされています。そこで、サリドマイドならびに歯科用金属組成元素のAg, Cu, Pd, Znの発生毒性への影響を検討しました。ヒトの肝機能を維持しながら長期間培養ができる市販のTEST LIVER™ (TOYOBO) で培養した培養液とマウスES-D3細胞培養液を混合し、ES-D3細胞を懸滴培養して得られるEmbryoid Bodies (以下、EBs) から分化した心筋の鼓動率をしらべました。

試料無添加群の心筋鼓動率はともに66.7%であった。AgならびにサリドマイドでEBsの分化率が有意に低下しました、しかしCuならびにZnではEBsの分化率はやや高くなりました。またPdでは有意差が認められなかった。サリドマイドは臨床的に強い発生毒性が指摘されており、代謝活性化しなかった場合と比べてEBsの分化率が低下したことは、代謝活性によってなお一層ヒトの臨床データに近づいたものと考えられます。一方、金属イオンが細胞分化に与える影響については比較できるヒトの発生毒性の臨床データがほとんど見あたらない。さらに、今回のすべての金属元素はすでに歯科用合金組成元素として数多く用いられているため、さらに多くの発生毒性データ収集による慎重な検討が必要であると考えられます。細胞毒性については、ラットのTEST LIVER™を用いて代謝活性化した場合の細胞生存率データが代謝活性化しなかった場合よりも動物実験データとの相関性が高かったことを指摘してきました。しかし、代謝活性を導入する培養時間や実験方法自体に改良を加えることによって、より正確なデータが得られる余地は大きいと考えられます^{15, 16)}。

また、代謝活性については様々な肝由来細胞を用いた研究も実施してきました。さらに、ES細胞の元のinner cell massは体内で卵管あるいは子宮の細胞と関わり合うことから、これらの細胞とES細胞との間で細胞間コミュニケーションが確立される可能性が大きいと、生殖器由来のマウス子宮ならびに卵管由来の初代細胞をfeeder layerと用いて検討しました。その結果、3種類の子宮由来と卵管由来の初代細胞をfeeder細胞に使用した場合、細胞分化の方向性について、心

筋へ分化させる場合にはfeeder細胞の種類によって異なる結果が得られましたが、異形性を示す細胞が混在したfeeder layerではES細胞の細胞分化が悪いことが判明しました¹⁷⁾。このように様々な改良法を考案して各種のナノやサブミクロンの材料¹⁸⁻²¹⁾ や水銀蒸気²²⁾ についても発生毒性を検討してきました。

発生毒性試験には従来から動物実験が採用されてきたが、動物の種差によるバラツキもあるため、ヒトの代謝活性因子を導入した本試験法は、スクリーニング試験として今後の発生毒性の存在を従来法と比べて、ヒトへの予知性がさらに高められる可能性が大きいものと期待できます。

5. 動物実験代替法による生物学的評価の世界情勢

細胞を用いた生物学的評価法は、動物実験の場合と比べて、時間的、経済的、統計的に有利であるとされています。また、ヒトと他の動物では異なることが多いのも事実です。もちろん細胞を使った実験には限界もありますが、動物の種差や種固有の寿命によるデータの変動も無視できません。さらに、新規合成される天文学的な数の化学物質を調べることや、様々な動物実験の限界²³⁾ もあることから、細胞を使用した*in vitro* スクリーニング試験法が社会的に求められています。さらに、動物愛護の立場からも実動物数の削減などにも有効であると考えられています。そのため動物実験代替法は先進国を中心にさかんに研究されています。

動物実験代替法は当初化粧品業界を中心に注目されていましたが、医薬品、医療機器（機器だけではなく歯科材料も含みます）、一般化学物質等の安全性評価のためにその開発が必要であるとされており、そのため、OECD（経済協力開発機構）、ISO（国際標準化機構）、ICH（日米EU医薬品規制調和国際会議）などの国際機関でも多くの動物実験を代替する各種試験法が新たに提案されています。これらの代替法の開発やバリデーションを促進するため、欧州ではECVAM（欧州代替法評価センター）が設立され、すでに化粧品については一部の実験を除いて動物実験は全面的に禁止されています。また、米国でもICCVAM

(動物実験代替法に関する評価を行う複数省庁の合同委員会) が設立され、また具体的な動物実験代替法を評価するNICEATM(代替法評価に関する毒性学プログラム省庁間センター) によってより活発化されてきました。本邦でも厚生労働省の傘下にJaCVAM(日本動物実験代替法評価センター) が設立されています。国際的な動物実験代替法の技術革新の流れは大きく、化学物質の安全性再評価と動物実験代替法の技術革新を求めた欧州のREACH(化学物質の登録、評価、認可および制限) 規制は、欧州で販売されている化学物質で、新規に合成された化学物質や天然の化学物質を含めて、すでに市販されているすべての化学物質に動物実験代替法で生物学的安全性評価を行うことが定められています。日本国内の輸出産業に大きな波紋が及んでいます。先進国では安全性情報のない化学物質、一般の工業製品、医薬品、医療機器は製造・輸入・使用が出来なくなり、「安全性なくして市場なし」という段階にまで来ています。これらの動物実験代替法の国際的な流れは、国際標準や国際指針にも採用されています。3Rs(実験動物の苦痛軽減: Refinement、使用量の削減: Reduction、動物実験代替法の使用: Replacement) の促進で、これらは現実的に動物実験の遂行を根本としています。そのため、動物実験自体を認めない動物愛護団体の主張とは根

本的に異なります。

6. 新しい歯科分野の提案

1) 緊急時に補綴物から体内に薬剤を自動注入するシステム

我が国は高齢者社会で、核家族化が進み老人の一人暮らしが大変多くなっています。現在、離れた家族が老人の安否を確認するシステムが数多く開発されています。お年寄りが無線通信機を内蔵したポットの電源を入れたり、給湯したりすると、離れて暮らす家族にインターネットを通じて、携帯電話やパソコンで見守ることができるシステムがあります。また、トイレやドアに仕込んだセンサーによる安否確認が出来るシステムや、ガスや電気の利用によるシステムなど多彩なシステムが開発されています(図13)。しかし、これらは離れた家族に老人の安否を知らせる機能しかありません。警備会社やお年寄りの近くに住む知り合いに連絡しても、老人が心筋梗塞や脳梗塞などの緊急時には対応できません。これらの装置では老人の命は救うことが難しいのです。

そこで、ほとんどの老人の口腔内には補綴物が装着されています。これらの補綴物内部には空間があり、これを活用して緊急薬剤注入システムを作ることができます。現在、超小型で強力なサマ

センサ	みまもりほっとラインt-pot(象印マホービン株式会社) 無線通信機を内蔵した「iポット」携帯電話やパソコンでお知らせ 一人暮らし高齢者安否確認システム(株式会社LIBERO) トイレや寝室、冷蔵庫などに設置した安否確認センサ、既設の電話回線 たてやまみまもりeye(株式会社立山システム研究所) 高齢者宅に設置したセンサ、メールアドレスに異常を通知 見守り介護ロボット・ケアロボ「バル」(株式会社テクノスジャパン) 離床センサや徘徊センサ、認知症ケア製品、呼出しスイッチ 見守りサービス(NPO 法人在宅医療サポート協会) 高齢者宅設置センサ、メールと電話 見守りハビネス(セントラル警備保障株式会社) 緊急ペンダントを押した時、一定時間動きがない時 メールと電話 センサによる見守りシステム「いまイルモ」(株式会社ソルクシーズ) 「みまもりセンサ」で人体検知、動作検知、温度測定、湿度測定及び照度
	みまもへる(東京ガス株式会社) 日々のガスの使われ方 携帯電話のeメールやパソコンでお知らせ あんしんテレちゃん(NITテレコン株式会社) ガスメーターに通信装置
ガス使用	ネットミル見守りサービス(志幸技研工業株式会社) 日々の電力の使用量から 携帯電話のeメールやパソコンでお知らせ フレッツ・ミルエネ(東日本電信電話株式会社) 日々の消費電力量等 携帯電話のeメールやパソコンでお知らせ
	HOME ALSOKみまもりサポート(ALSOK) 警備員による非常時の「駆けつけサービス」 シニアセキュリティ(東急セキュリティ株式会社) 自宅内でペンダントを握ると警備員が駆けつける
電気使用	

図13 様々な安否確認システム

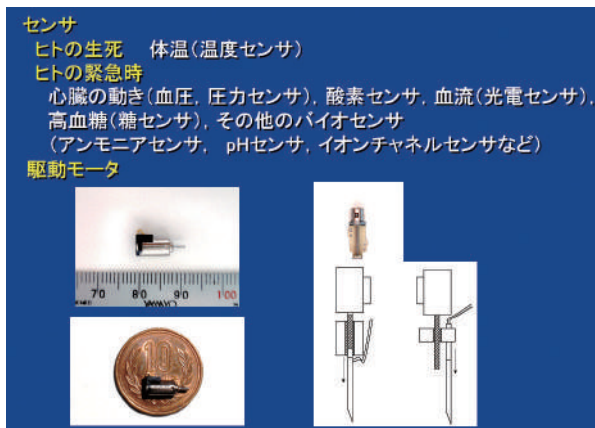


図14 センサと超小型モータによる駆動機構

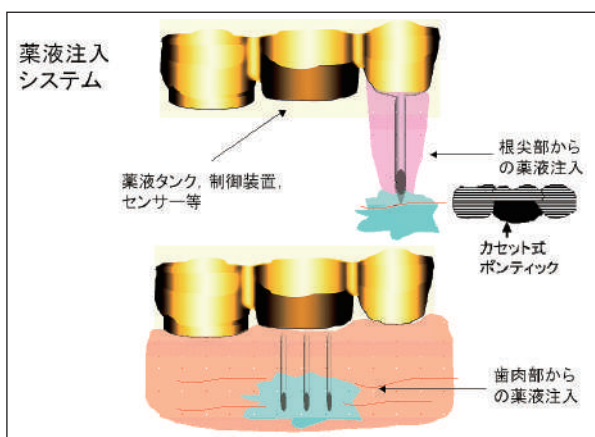


図15a 緊急時に補綴物から体内に薬剤を自動注入するシステム

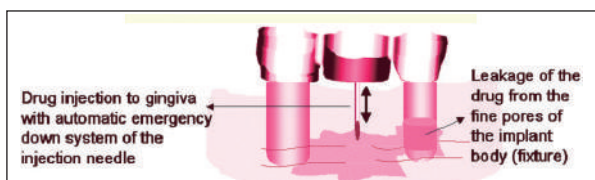


図15b インプラント体から体内に薬剤を自動注入するシステム

リウム磁石を使用した駆動モータやボタン型バッテリー（図14）があり、各種の小型センサーに連動できるシステムで、緊急時に老人の口腔内に薬液を自動注入できる機構を提案します。なお、歯根部に挿入できるタイプは根尖が血管とつながっているので注射針の上下機構は必要ないと考えます。インプラントタイプの場合はインプラント体から僅かに薬剤が出て周囲の血管に薬剤を浸透させることも可能と考えます（図15a,b）。

2) 口腔内における光毒性誘発物質による治療

光によって毒性レベルが増大する化学物質が知られています（図16）。これらには天然植物の生薬成分など多くの化学物質が知られており、光毒性の機序もほとんど解明されています。化粧品会

口腔内における光毒性誘発薬物による治療

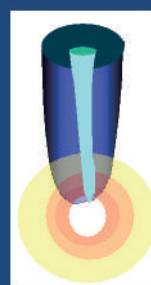
光毒性誘発薬物

天然植物の生薬成分 psoralen
 コールタール成分 acridine
 産業生成物 anthracene
 抗菌剤や抗生物質
 フェノチアジン系薬物
 （統合失調症）
 など多数存在する。



図16 光毒性を示す化学物質

透明根管充填材



レーザー光、光照射器の光線を通してあるいは歯冠埋入型のLED光を通して

組成

PMMA/PEMA
 8-MOP
 光重合促進剤
 有機フィラー
 etc.



もし、歯周炎で再治療が必要になっても根管充填材の除去は第1選択ではなく、光照射による抗菌性を持たせているので、光照射して治療を行う。なお、レーザーによっても照射可能

修復物横面にあらかじめ照射孔を開けて透明レジンで充填しておくことも可能
 将来的には赤外線やエックス線なども可能で横から歯肉を照射

図17 根尖病巣の頑固な細菌叢への打撃

社などでは化粧品成分で光毒性ある場合が非常に困るため、光毒性試験法が数多く開発されています。皮膚科領域ではPUVA療法として8-MOP（8-メトキシソラレン）が治療に多数使用されています。歯科領域でも難治症例にこの光を使った療法を活用することが可能であると考えます。例えば根尖病巣は、透明で8-MOPなどを混入あるいは塗布した根管充填材を開発することで、歯科用レーザーなどの強い光を照射すると、根尖病巣の頑固な細菌叢がダメージを受ける可能性が大き



図18 透明な治療義歯の製作

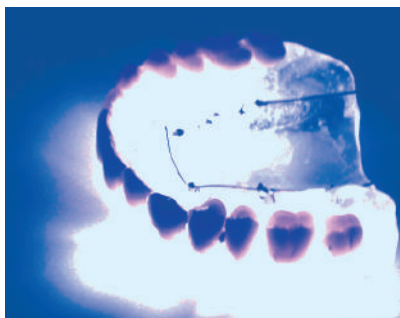


図19 光る義歯

いと考えられます (図17)。義歯の分野では、義歯内部に強力なLEDを入れた"光る義歯"も試作しました (図18, 19)。口腔粘膜疾患の難症例に薬剤を塗った後にこの治療義歯を使用することを想定します。

3) "Denture Camera"を使用した目の代替

完全に盲目の方に目の代替機能を装備した"Denture Camera"を提案します。義歯の歯の先端につけた超小型カメラから画像入力し、信号をA/D変換および情報のマッピングを行った後、"Denture Camera"の口蓋部に付けた小さなニクロム熱源を集合させたアレイ状ヒータから、小さな熱源の集合体としての画像情報を口腔粘膜に伝達できる装置です (図20)。ただ、口蓋部には

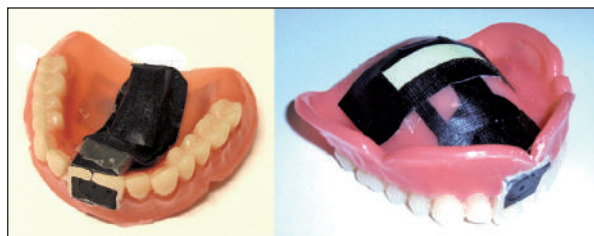


図20 "Denture Camera" 試作機。歯の先端に超小型カメラを搭載し画像を熱変換して口蓋部で2次元感知

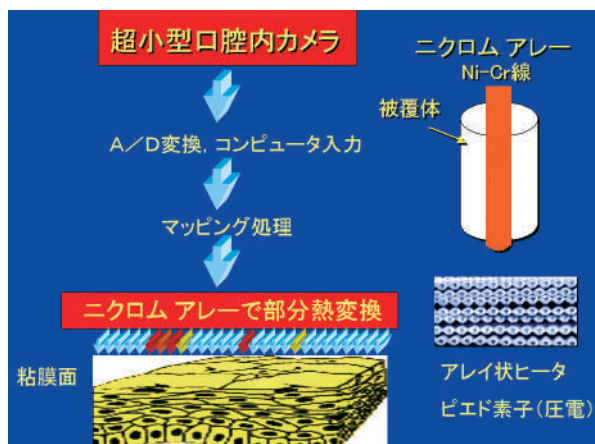


図21 "Denture Camera"の構造

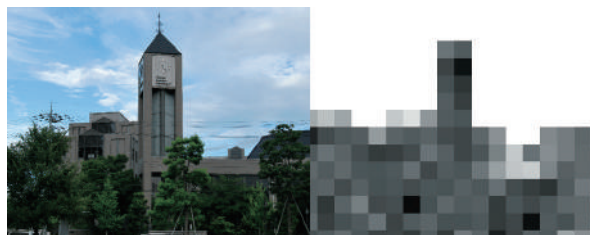


図22 "Denture Camera"の温度変化による画像感知

比較的感覺器が乏しいのですが、僅かな温度変化で構造物がリアルタイムで認識できれば盲目の方に大変な朗報になると考えます (図21)。ただし、画像はモノクロで粗いものになると思います (図22)。他にピエゾ素子による感圧なども伝達媒体として考えられます。目に近い口蓋の粘膜で感じると左右や上下の関係が錯誤しにくくなると考えます。

4) 歯や義歯の空洞活用情報システム

緊急時に補綴物から体内に薬剤を自動注入するシステムで述べた補綴物内部には空間に非常に小さな情報機器を入れることで、図23に示すような数々の便利な機能を発揮できるシステムを提案します。最近、認知症による徘徊老人の社会問題



図23 歯や義歯の空洞活用システム



図24 歯や義歯の空洞活用の社会的発展

が問題になっており、さらに子供の迷子や誘拐などの場合にGPS機能を付けることで義歯に付加機能を付けたものです。このシステムでは情報機器の数多くの発展が考えられ(図24)、近未来には歯科に導入される可能性が高いと思われます。

図25に将来の歯科医院の広告文を想定します。

以上、将来の歯科の発展は新しいアイデアを実現することで大きく発展すると思います。

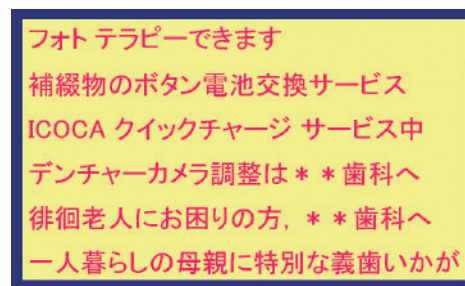


図25 将来の歯科医院の広告

参考文献

- 1) Evans M, Kaufman M. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292 (5819) : 154-156.
- 2) Thomson J, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S, Waknitz M, Swiergiel J, Marshall V, Jones J. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282 (5391) : 1145-1147.
- 3) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-676.
- 4) 中山功一. 骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ3Dプリンタの開発について. 日本動物実験代替法学会第27回大会抄録集 2014:83.
- 5) Imai K, Kusakawa S, Tanoue A, Nakamura M. Effects on ES-D3 cell differentiation of three-dimensional cell culture system using with collagen gel derived from chum salmon sources. *J Oral Tissue Engin*, 2007; 5: 81-86.
- 6) Imai K, Uemura T, Tanoue A, Nakamura K, Suese K, Takashima H. An attempt to study of mouse ES cell differentiation using collagen derived from tilapia scale. *J Oral Tissue Engin*, 2012; 10: 89-94.
- 7) Imai K, Honda Y, Suese K. Development of suitable scaffold based on tilapia fish collagen for the long-term differentiation culture of embryonic stem cells. *J Bio-integ*, 2013; 3: 75-78.
- 8) 津田行子, 岡野光夫. インテリジェント表面とその医療への応用. 表面科学 2006;27:176.
- 9) Spielmann H, Pohl I, Doring B, Liebsch M, Moldenhauer F. The embryonic stem cell test (EST), an in vitro embryotoxicity test using two permanent mouse cell lines: 3T3 fibroblasts and embryonic stem cells. *In Vitro Toxicol* 1997;10:119-127.
- 10) Spielmann H, Liebsch M. Lessons learned from validation of in vitro toxicity test: from failure to acceptance into regulatory practice. *Toxicol In Vitro* 2001;15:585-590.
- 11) Spielmann H, Liebsch M. Validation successes: chemicals. *Altern Lab Anim* 2002;30 Suppl 2:33-40.
- 12) Seiler AE, Spielmann H. The validated embryonic stem cell test to predict embryotoxicity in vitro. *Nat Protoc* 2011;6: 961-978.
- 13) Imai K, Kosada Y, Kuroda S, Nakamura M. The effects of dental monomers on total nitrate/nitrite production in HEp-2 cells. *AATEX*, 2003; 9: 45-51.
- 14) Imai K, Nakamura M. In vitro embryotoxicity testing of metals for dental use by differentiation of embryonic stem cell test. *Congenital Anomalies*, 2006; 46: 34-38.
- 15) 今井弘一, 中村和昭, 田上昭人. 代謝活性因子を含めた in vitro 発生毒性評価法の開発. *J Bio-integ*, 2012; 2: 91-96.
- 16) Imai K, Tanoue A, Nakamura K, Honda Y, Suese K. An attempt to in vitro embryotoxicity test using mouse ES cells and human hepatocytes. *AATEX*, 2013; 18: 32-37.
- 17) Imai K, Nakamura K, Tanoue A, Suese K, Honda Y, Ogawa F, Watanabe C, Ohmukai H, Takashima H. Development of the embryotoxicity test using the hybrid 3D cultivation technique of human hepatocytes and a mouse ES cells - use of novel feeder. *J Oral Tissue Engin*, 2013; 11: 51-56.
- 18) Imai K, Suese K, Akasaka T, Watari F, Takeda S. In vitro study of cell differentiation by mouse embryo stem cells on nanocarbon tubes. *Nano Biomed*, 2010; 2: 47-51.
- 19) Imai K, Akasaka T, Watari F, Tanoue A, Nakamura K, Suese K, Takashima H, Nishikawa T, Tanaka A, Takeda S. In vitro study of cell differentiation by two type mouse embryo stem cells on mono- and multilayer nanocarbon tubes. *Appl Surf Sci*, 2012; 258: 8444-8447.
- 20) Imai K, Watari F, Akasaka T, Suese K, Ogawa F, Sawai H, Takashima H. An attempt to study of the embryotoxicity by the diamond particles of dental diamond points with the embryonic stem cell test. *Nano Biomed*, 2013; 5: 104-108.
- 21) Imai K, Watari F, Suese K, Honda Y, Takashima H. Embryotoxicity of the multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) using the three-dimensional culture of ES-D3 cells. *Nano Biomed*, 2013; 5: 44-49.
- 22) Imai K, Kusakawa S, Tanoue A, Kuwagata M, Senuma M, Furuya M, Takashima H. In vitro embryotoxicity testing of mercury vapour by differentiation of ES-D3 cells. *AATEX*, 2008; 13: 118-122.
- 23) 西住圭治, 瀬戸洋一(座長). 動物実験代替法における適応限界への挑戦. 日本動物実験代替法学会第27回大会抄録集 2014:57-60.