

## 歯のバイオリサイクル医療技術の開発と応用

赤澤 敏之, 執行 達弘, 野村 隆文, 稲野 浩行, 板橋 孝至, 山岸 暢  
中村 勝男, 日高 青志, 万城目 聡, 三津橋 浩行, 高橋 徹  
村田 勝<sup>\*1</sup>, 長野 二三<sup>\*1</sup>, 田崎 純一<sup>\*1</sup>, 飯田 俊二<sup>\*2</sup>  
柏崎 晴彦<sup>\*2</sup>, 大久保直登<sup>\*3</sup>, 柴田 智裕<sup>\*4</sup>, 菊地 雅彦<sup>\*5</sup>

### Development and Application of Bio-recycle Therapy Technology for Human Teeth

Toshiyuki AKAZAWA, Tatsuhiko SHIGYO, Takafumi NOMURA, Hiroyuki INANO  
Kohji ITABASHI, Tohru YAMAGISHI, Katsuo NAKAMURA, Seiji HIDAKA  
Akira MANJOME, Hiroyuki MITSUHASHI, Touru TAKAHASHI  
Masaru MURATA<sup>\*1</sup>, Futami NAGANO<sup>\*1</sup>, Junichi TAZAKI<sup>\*1</sup>  
Shunji IIDA<sup>\*2</sup>, Haruhiko KASHIWAZAKI<sup>\*2</sup>, Naotoshi OUKUBO<sup>\*3</sup>  
Tomohiro SHIBATA<sup>\*4</sup>, Masahiko KIKUCHI<sup>\*5</sup>

#### 抄 録

高齢化社会に役立つ骨再生医療の革新と普及を目的として、自己の不要な歯（抜去歯）を活用し、歯から骨をつくる観点で臨床治療を行う医用技術を検証、展開する方法を提案した。歯の象牙質や歯髄細胞をリサイクルするため、ヒト抜去歯を冷却高速粉碎する装置を改良、製品化した。その装置を用いて歯を粉碎、酸処理する脱灰象牙質マトリックス（DDM）顆粒の調製とその表面改質法、歯髄の迅速分取・細胞培養法を確立し、北海道からアジアへ発展する医療ビジネスモデルを構築した。DDM顆粒は優れた吸収性・骨誘導性生体材料として、大学病院、公立病院、一般歯科医院で50症例の臨床試験に応用された。

**キーワード：**ヒト抜去歯、バイオリサイクル、歯用高速粉碎装置、象牙質脱灰顆粒、表面改質、歯髄細胞、医療ビジネスモデル

#### Abstract

For the innovation and dissemination of useful bone-regeneration therapy in graving society, a bio-recycle therapy technology utilizing unnecessary teeth (extracted teeth) of patient's own was proposed to verify and spread the medical technology that was clinically applied from the viewpoint realizing bone-regeneration using human teeth. Bio-recycling extracted human dentin and dental pulp, a cooling and high velocity-pulverizing apparatus was improved and produced commercially. Extracted human teeth were easily pulverized using the apparatus and dissolved with acids to form partially or completely demineralized dentin matrix (DDM) granules. Surface modification methods of DDM and rapid extraction and cell-culture techniques of dental pulp were established, so that a medical business model would be developed from Hokkaido prefecture to Asian countries in the future. The DDM granules were successfully applied as excellent bio-absorbable and osteoinductive biomaterials for 50 cases of clinical studies in University hospitals, public hospitals, and general dental clinics in Japan.

**KEY-WORDS :** Extracted human teeth, Bio-recycle, High velocity-pulverizing apparatus for human teeth, Demineralized dentin matrix granules, Surface modification, Dental pulp, Medical business model

---

事業名：職員奨励研究、課題名：ヒト天然歯のバイオリサイクル医療の革新と海外ビジネス戦略（平成22年度）

<sup>\*1</sup> 北海道医療大学歯学部 (School of Dentistry, Health Sciences Univ. of Hokkaido), <sup>\*2</sup> 北海道大学大学院歯学研究科 (Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido Univ.), <sup>\*3</sup> 岩手医科大学 (Iwate Medical Univ.), <sup>\*4</sup> 東京医研(株) (Tokyo Iken Co., LTD.), <sup>\*5</sup> (株)ムトウ (Mutoh Co., LTD.)

## 1. 緒言

高齢社会の到来に伴い、歯周病患者が急増し、安全・簡便な治療法が熱望されている。非吸収性の生体材料は、生体組織にとって異物であり、線維や骨で被包化、排除される。骨再生には、骨代謝に調和する材料が必要である。したがって、臨床医学及び歯学領域では、患者の埋入部位や状況に応じて、吸収速度と強度が生体内で適当なバランスを保持し、骨新生・骨再生に伴い吸収、母組織に置換される生体材料の開発が強く要望されている。生体組織由来材料は、生体環境中微量元素イオンやサイトカインの包含により、生命体が構築した粒子形態、表面構造及び化学的性質を維持している<sup>1)</sup>。細胞が構築した3次元的多孔構造は、細胞が増殖、分化、遊走する環境に最適である。先天奇形、腫瘍摘出、外傷による骨欠損には、生体模倣材料を用いた骨再生療法が有効である。

歯は表層から深部へエナメル質、象牙質、歯髄で構成され、象牙質には、微量の骨形成促進物質が含有されている。北海道医療大学では、2004年に歯の銀行を構築し、その有効利用と臨床応用に着手している<sup>2-4)</sup>。従来、自己の不要な歯(抜去歯)の粉碎方法は、液体窒素下で金属製乳鉢・乳棒を用いた長時間粉碎であり、顆粒の粒度分布の制御は極めて困難である。この方法を歯科領域の治療へ普及するには、短時間の冷却高速粉碎、脱灰工程により、患部の埋込に適当な粒径分布の粉体を得ることが重要である。

我々は、歯科・医科領域の骨再生医療のイノベーションとして、抜去歯をリサイクルし、象牙質に微量含有される骨形成蛋白質を有効活用するため、ヒト抜去歯用冷却粉碎装置を開発(図1参照)、日本、米国、ヨーロッパの特許を申請した<sup>5)</sup>。抜去歯の粉碎部品には、泥漿鑄込法、高温酸化焼成法により、機械的強度と耐酸性に優れたジルコニア( $ZrO_2$ )セラミックス製容器と回転刃(菱形、長方形)を試作した。それを用いて脱灰象牙質顆粒(DDM)を迅速に作製、動物実験より骨誘導能を立証後、大学・公立病院、一般歯科医院で約50例の臨床試験を実施した<sup>6-10)</sup>。図2に、ヒト歯由来脱灰象牙質顆粒の臨床症例を示す。北海道医療大学倫理委員会の承認下で、上顎顎堤高度萎縮症の患者にDDM顆粒を埋入する骨増生手術を行い、歯槽骨再生4ヶ月後チタン製人工歯根を埋入、2年間で咬合機能を完全に回復させることに成功した<sup>6,7,9)</sup>。

本研究では、高齢化社会に役立つ骨再生医療の革新と普及を目的として、抜去歯を活用して、歯から骨を再生する視点で臨床治療する医用技術を検証し、発展、普及する方法を考案した。すなわち、ヒト抜去歯を容易に冷却高速粉碎する装置を改良、製品化し、抜去歯の粉碎顆粒、酸処理した脱灰象牙質マトリックス(DDM)顆粒を作製すると共に、吸収性と骨誘導能に優れたDDM顆粒の表面改質法、歯髄の迅速分取・細胞培養法、韓国医療チームとの連携下で北海道からアジアへ発信する医療ビジネスモデルの構築等を検討した。

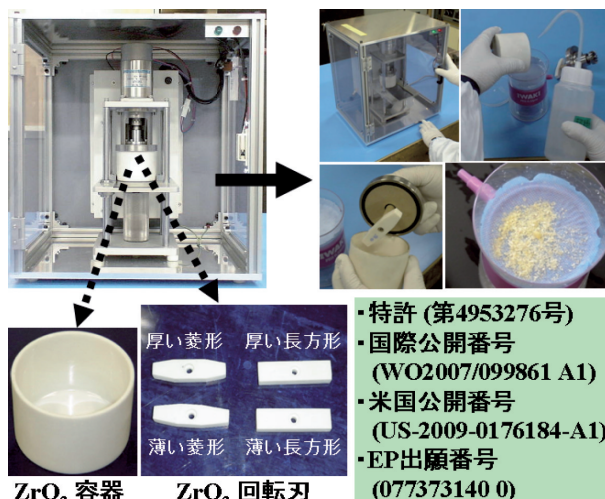


図1 ヒト抜去歯用冷却粉碎装置とその使用法

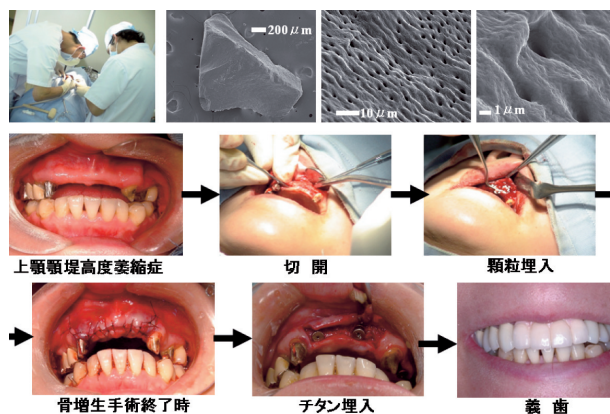


図2 ヒト抜去歯由来脱灰象牙質顆粒の表面組織と臨床症例

## 2. 実験方法

### 2.1 歯用冷却高速粉碎の試作と抜去歯の粉碎

従来のジルコニア( $ZrO_2$ )製容器と回転刃を装着した抜去歯用冷却粉碎装置について、医療従事者の使用状況を調査、改善要求事項を抽出・整理し、そのデザイン開発を行い、改良装置を設計・試作した<sup>11-14)</sup>。

抜去歯の粉碎部には、 $ZrO_2$ セラミックス製容器と回転刃を用いた。それを冷却高速粉碎装置に装着後、ヒト抜去歯を12,000rpm、30~60sで冷却高速粉碎した。その際、象牙質由来の生理活性物質の失活防止と洗浄効果のため、生理食塩水と共に粉碎した。そのスラリーを吸引濾過、洗浄、室温乾燥により粉碎顆粒を作製した<sup>11-14)</sup>。

### 2.2 象牙質脱灰顆粒の調製と表面改質法

抜去歯の粉碎顆粒を0.3~2.0%硝酸( $HNO_3$ )や塩酸(HCl)水溶液へ添加、277~310Kで攪拌または超音波溶解し、脱灰象牙質マトリックス(DDM)顆粒を作製した<sup>11-13)</sup>。その表面改質では、生体模倣環境として、309.5K、pH7.4で細胞が存在しないアパタイトに対して過飽和な疑似体液(SBF)を調製した。

DDM顆粒を309.5K、pH7.40のSBFに浸漬し、水酸アパタイト（HAp）微結晶を析出させ、顆粒表面を改質した<sup>14,15)</sup>。

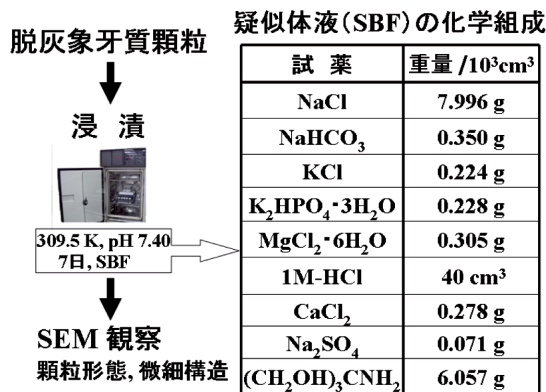


図3 生体模倣環境下でヒト脱灰象牙質顆粒の表面改質法

### 2.3 各種顆粒の物理化学的特性の評価

得られた試料について、X線回折（XRD）より生成相を同定、誘導結合プラズマ発光分光分析（ICP）と電子線微小部分分析（EPMA）より化学組成を分析、走査形電子顕微鏡（SEM）より微細構造を観察、窒素吸着法よりBET比表面積と細孔径分布（PSD）を測定した。粉碎顆粒の酸溶解特性では、HNO<sub>3</sub>やHCl希薄水溶液を用いた脱灰処理前後の重量変化より、溶解効率の経時変化を測定した。

### 2.4 DDM顆粒の生物検定

生体親和性や骨誘導特性の評価では、DDM顆粒をWistar系ラット背部皮下組織内に埋入、2～4週後周辺組織を一塊として摘出、固定、脱灰し、ヘマトキシリン・エオジン（H-E）染色後、光学顕微鏡より組織形態学的観察を行った<sup>5,9)</sup>。

### 2.5 歯髄組織の採取・細胞培養方法

図4に、歯髄組織の採取装置を示す。歯髄細胞の採取では、抜去歯を抗菌薬（ペニシリン、ストレプトマイシン）含有のリン酸緩衝液へ浸漬、洗浄した。それを自動精密切断機、滅菌した粉碎装置や歯用固定装置（過去の開発商品：FIXくん）等を用いて切断し、歯髄組織を採取した。特に、歯用固定装置の場合では、抜去歯を固定後、各種歯科用加工工具により歯を分割、切断し、歯髄組織を採取した<sup>15)</sup>。



図4 歯髄組織の採取装置

(a)自動精密切断機, (b)歯用粉碎装置, (c)歯用固定装置)



図5 歯用固定装置を活用した歯髄細胞の採取方法

歯髄の細胞培養では、歯髄組織を2mm角に切断、抗菌薬含有リン酸緩衝液に細胞を抽出、309.5Kのインキュベータ内DMEM（Dulbecco's Modified Eagle Medium）培地で7日間静置培養後、光学顕微鏡より細胞数・細胞形態を評価した<sup>15,16)</sup>。

## 3. 実験結果及び考察

### 3.1 改良高速粉碎装置の試作と抜去歯の最適粉碎

図6に、本研究で試作した歯用冷却高速粉碎装置を示す<sup>11-13)</sup>。図1の現行粉碎装置を基本として、ZrO<sub>2</sub>製容器の装着と取り出し、昇降台の操作、パネルの構成、台座の形状、装置カバー、運搬性等を改良した。連続運転使用の耐久性、安全確認試験を実施し、医療機器申請を予定している。



図6 歯用冷却高速粉碎装置

図7に、歯用冷却高速粉碎装置を用いて、12,000rpm、30s粉碎した抜去歯由来顆粒の微細構造を示す<sup>5-8)</sup>。粉碎後、生理食塩水が残存し、歯槽骨の再生に有効な粒度0.5～2mmの顆粒が得られ（a), b)), 歯由来HApとコラーゲンの複合組織（c), e), f)), 約1～3μmの象牙細管（d))が観察された。この顆粒は、XRDよりHAp相が同定、ICPより1%以下のNa<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>が検出され、(Ca/P)のモル比は1.60～1.66を示し、微量金属イオン含有Ca<sup>2+</sup>欠損型HAp複合体であることが明らかになった。なお、ZrO<sub>2</sub>製容器や回転刃の摩耗粉の混入は認められなかった。



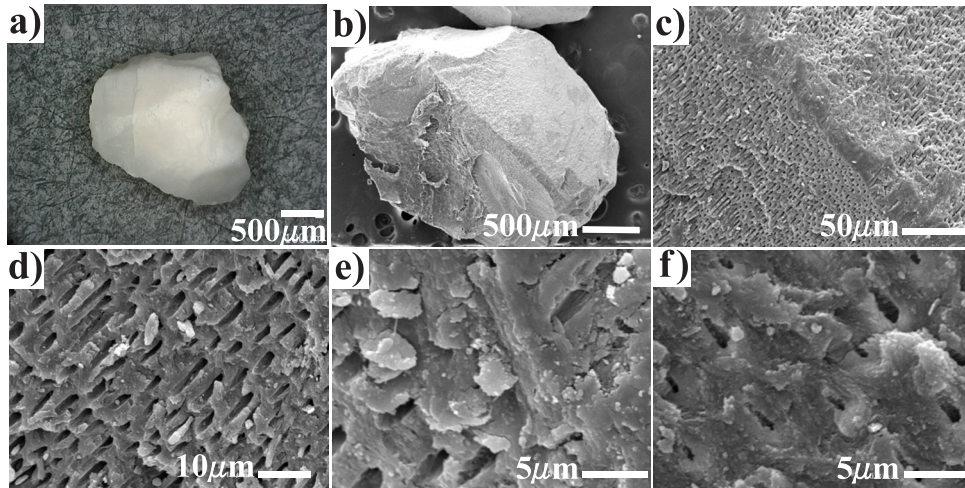


図7 ヒト抜去歯由来粉碎顆粒の微細構造

(生理食塩水, ZrO<sub>2</sub>回転円・容器, 回転数12,000rpm, 30s, a):DM80倍, b):SEM45倍, c):50倍, d):2,000倍, e), f):5,000倍)

### 3.2 部分・完全DDM顆粒の作製と評価

骨形成蛋白質の徐放速度を制御するため、抜去歯のエナメル質や象牙質からミネラル成分を脱灰除去する工程として、粉碎顆粒の酸処理条件を検討した。HNO<sub>3</sub>やHCl希薄水溶液を用いた攪拌処理により、溶解効率の異なるDDM顆粒を調製した。図8に、異なる液温の2.0% HNO<sub>3</sub>水溶液中で、ヒト抜去歯粉碎顆粒の攪拌時間と溶解効率の関係を示す<sup>8, 11, 12, 14</sup>)。処理温度が高い方が溶解効率は高く、攪拌時間の経過に伴い試料重量は減少、溶解効率は増加した。293K, 30min攪拌では、EPMAより顆粒表面のCa<sup>2+</sup>とPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>は検出されず、表面近傍のHAp相の脱灰は完結することが分かった。図9は、ICPにより各攪拌時間のHNO<sub>3</sub>処理溶液中Ca<sup>2+</sup>とPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>溶解量を示したものである。各種試料の(Ca/P)のモル比は1.8~2.0であることから、部分DDM顆粒はCa<sup>2+</sup>欠損型HApとコラーゲン複合体であると推測される。図10に、a) 10min攪拌の部分DDM (溶解効率42%), b) 60min攪拌の完全DDM顆粒 (91%)の微細構造を示す<sup>8, 11, 14</sup>)。a)では均質な1~3 μmのマイクロ細孔が分散した平滑表面、b)では凹凸が激しい表面が観察された。

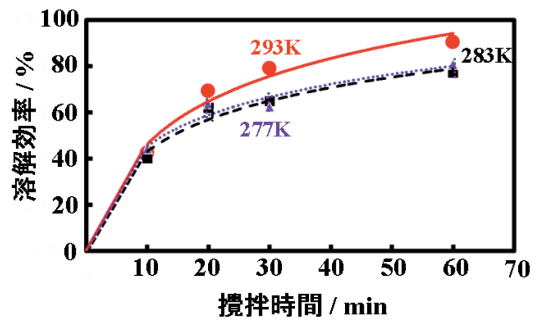


図8 ヒト抜去歯由来粉碎顆粒の攪拌時間と溶解効率の関係 (溶解温度277-293K, pH1, 2.0% HNO<sub>3</sub>, 攪拌回転数500rpm)

120W, 38kHz, 293~310K超音波溶解については、ほぼ同等の溶解効率曲線が得られ、超音波処理30と45minの溶解効率は、それぞれ76と86%であった<sup>12, 13</sup>)。

図11に、0.3~2.0% HNO<sub>3</sub>水溶液中3 h処理したDDM顆粒の微細構造を示す<sup>14, 17</sup>)。いずれの濃度でも約1~2 μmの象牙細管の形跡が多数観察され、HNO<sub>3</sub>濃度の上昇に伴い顆粒表面の凹凸が激しくなり、XRDよりHAp相が減少し、試

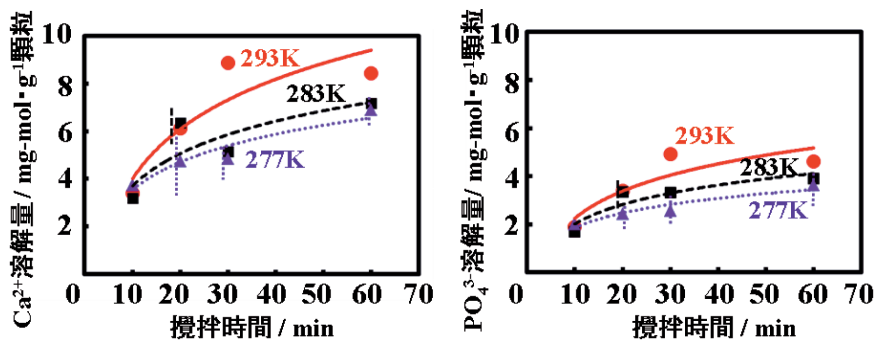


図9 ヒト抜去歯由来粉碎顆粒の硝酸溶液中攪拌時間と溶解量の関係 (溶解温度277-293K, pH1, 2.0% HNO<sub>3</sub>, 攪拌回転数500rpm)

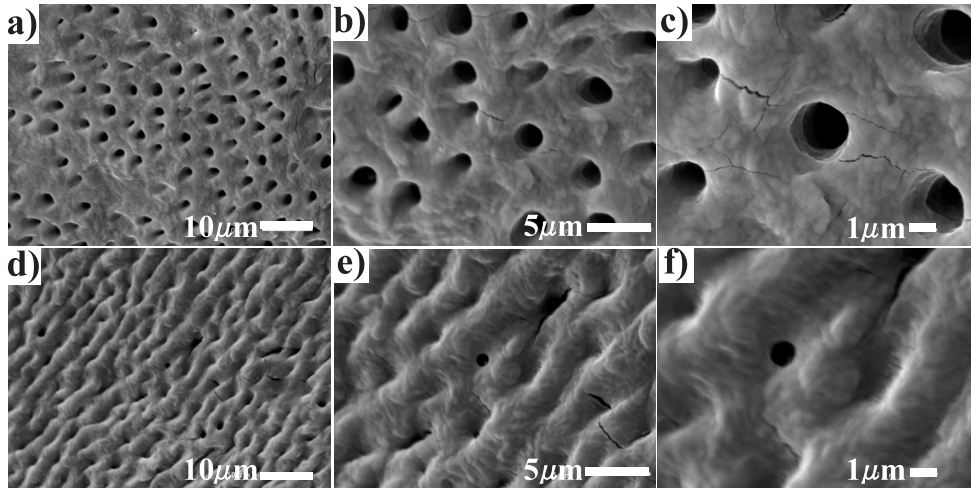


図10 ヒト抜去歯由来DDM顆粒の微細構造  
(溶解温度293K, pH1, 2.0% HNO<sub>3</sub>, 攪拌回転数500rpm, a), b), c):10min, d), e), f):60min)

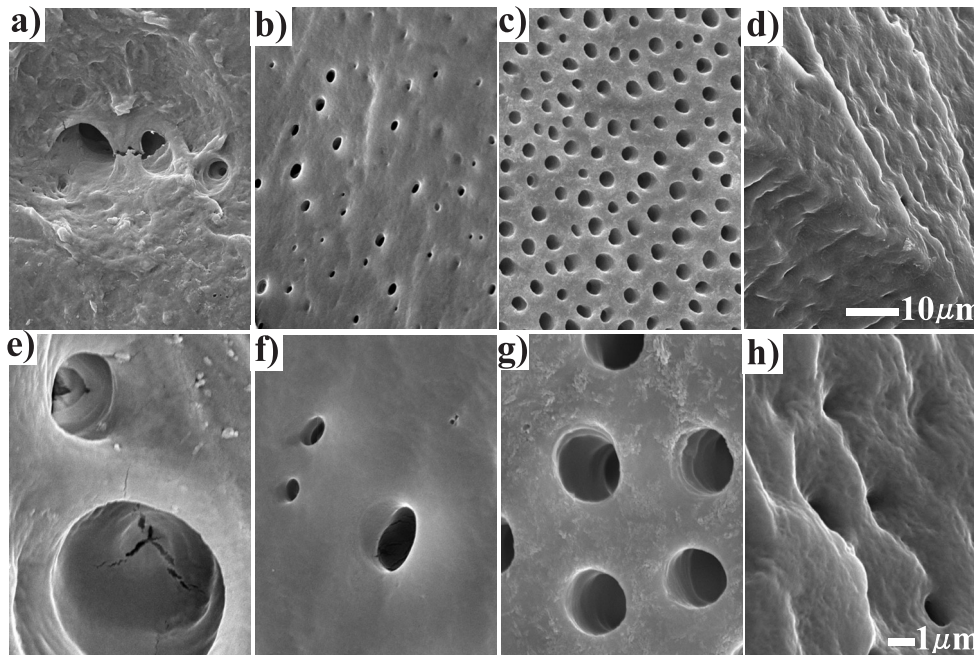


図11 ヒト抜去歯由来DDM顆粒の微細構造  
(溶解温度293K, pH1, 攪拌回転数500rpm, 3 h, a), e):0.3% HNO<sub>3</sub>, b), f):0.5%, c), g):1.0%, d), h):2.0%)

料重量の減少と溶解率の増加がみられた。HCl水溶液を用いた場合でも、ほぼ同様な傾向が得られた。

### 3.3 生体模倣環境でDDM顆粒の表面改質

生体高分子を選択的に吸着、骨形成細胞を活性化する性質を付与した自家移植材料を設計するため、DDM顆粒にHAp結晶をコーティングした<sup>18)</sup>。HApの被覆状態及び被覆量により、治療箇所のニーズに適応した材料の生体吸収速度や骨誘導能を制御することができる。生体模倣環境下SBF浸漬で、DDM顆粒表面へ蛋白質吸着や細胞接着・遊走に有効なHAp結晶の析出条件を検討した。脱灰状態に依存して異なる形態と

サイズのHAp結晶が析出した。図12と13に、293KでHNO<sub>3</sub>脱灰後、SBFに10min浸漬した部分DDM顆粒と60min浸漬した完全DDM顆粒の微細構造を示す<sup>8,11,14)</sup>。図12より8 h浸漬から骨類似HAp結晶が次第に析出し、144 hでコラーゲンに配向した繊維状HAp結晶も観察される。図13より粉碎顆粒の脱灰率が高い条件では、抜去歯由来ミネラルの結晶癖は少ないため、48 h浸漬でDDM顆粒表面上に数10nmのHAp結晶が均質分散した組織が観察された。これらの試料では、PSDよりアルブミン等の蛋白質吸着に有効な細孔構造と大きなBET比表面積を有することが判明した<sup>15)</sup>。



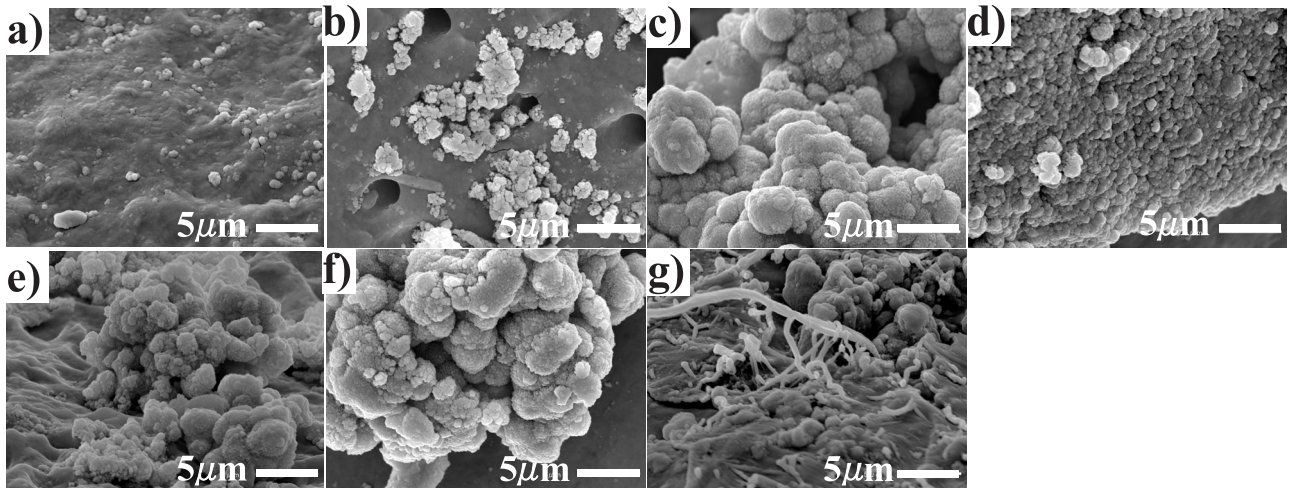


図12 疑似体液へ浸漬したヒト部分DDM顆粒の微細構造 (293K, 10min, 2.0% HNO<sub>3</sub>溶液中部分脱灰後, 309.5K, pH7.40の疑似体液へ浸漬, a):4 h浸漬, b):8 h, c):24h, d):48h, e):72h, f), g):144h)

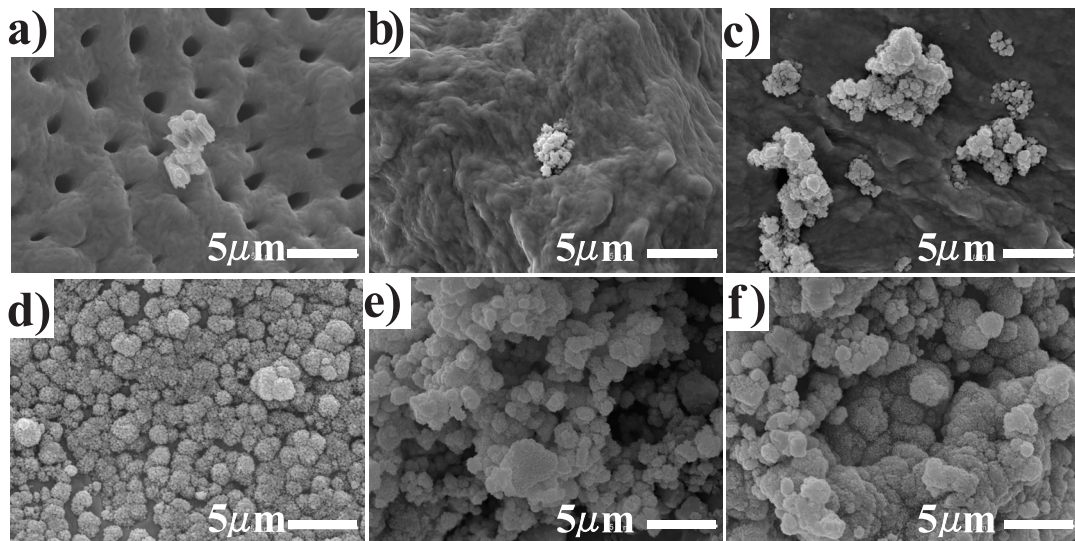


図13 疑似体液へ浸漬したヒト完全DDM顆粒の微細構造 (293K, 60min, 2.0% HNO<sub>3</sub>溶液中部分脱灰後, 309.5K, pH7.40の疑似体液へ浸漬, a):4 h浸漬, b):8 h, c):24h, d):48h, e):72h, f):144h)

### 3.4 部分・完全DDM顆粒の生物検定

攪拌または超音波溶解したDDM顆粒をラット背部皮下組織内へ埋入した。図14に、攪拌溶解した完全DDM顆粒の標本組織を示す<sup>5, 9)</sup>。埋入2週後では、炎症性細胞浸潤はみられなく、DDM顆粒表層に巨細胞が少ないにも拘わらず、体液浸透と吸収が認められた。4週後では、DDMは全体的に残存し感染や排除はなく、顆粒表面に骨誘導が観察された。超音波溶解、部分DDM顆粒の場合でも、同様な結果が得られたことから、DDMの組織適合性と生体親和性が立証された<sup>13, 17, 18)</sup>。

DDM顆粒では、酸処理によりミネラル成分の溶解効率が増加するに伴い、比表面積は減少し、残存した象牙細管の物理的構造(細管径と細管長)が鮮明に観察された。完全DDMの酸不溶性コラーゲンは、微視的に疎水性平滑表面を有する

ため、一般細菌の付着有効表面積は小さいと予想される<sup>19)</sup>。

DDM顆粒が生体組織に移植された場合、象牙細管は周辺組織に栄養成分を配送する経路となる。血液や体液と接触した固体表面では、蛋白質や電解質の吸脱着は容易に起こるが、その境膜層は極めて薄くなり、円滑な体液流動によって体液の局所的貯留は少なく、炎症性巨細胞が接着しにくいと考えられる。さらに、その象牙細管の細管径と細管長は小値であるため、市販生体材料に比べ、材料内部への細菌の物質移動は困難であり、感染確率も低くなると推察される<sup>19)</sup>。

以上の結果から、歯由来粉碎顆粒は、HNO<sub>3</sub>やHCl濃度(0.5~2.0%)と時間の処理条件の選定により、歯の有効成分や石灰化促進能を活用し、治療箇所に応じた吸収速度と骨誘導を有するDDMの設計・制御が可能である。

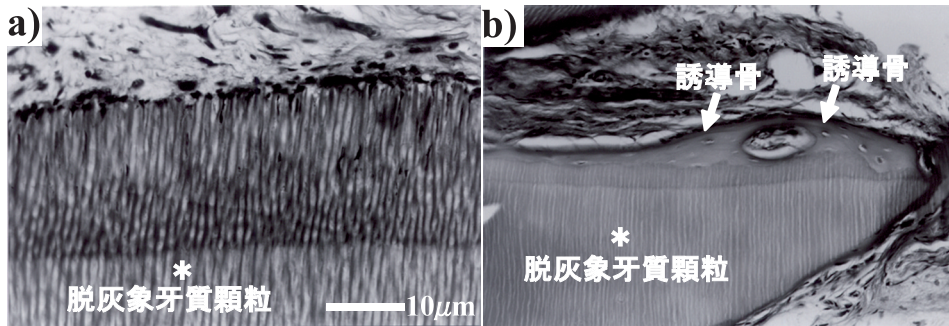


図14 ヒトDDM顆粒のラット背部皮下組織内への埋入標本組織 (a):埋入2週後, b):4週後)

### 3.5 歯髄の迅速採取と細胞培養

図15に、抜去歯由来歯髄の細胞培養手順と培養組織を示す<sup>15)</sup>。抜去歯用冷却粉碎装置を用いた12,000rpm, 5sの粗粉碎, または、歯用固定装置と加工具を用いた数分の切断により、抜去歯から歯髄組織を採取した (a))。それを切断 (b)), 抗菌薬含有リン酸緩衝液へ抽出 (c)), 309.5Kで7日静置培養 (d)), 光学顕微鏡により観察した (e), f))。DMEM培地へ10%FBS (ウシ胎児血清), 100Unit・cm<sup>-3</sup> ペニシリン・ストレプトマイシン, 1.0μg・cm<sup>-3</sup> アンフォテリシンB, 10ng・cm<sup>-3</sup> FGF1 (線維芽細胞成長因子), 15μgヘパリン) の添加により, 活発な紡錘状細胞が観察された<sup>15,16)</sup>。

SBF浸漬したDDM顆粒は, 固体表面にナノサイズのHAp微結晶が析出しているため, 歯髄細胞の固定, 増殖が可能である。今後, 歯髄細胞/HAp/DDM複合材料は, 歯周病による骨欠損部, 歯の移植やインプラント植立の骨増生のような歯科医療や高度先進医療への応用が期待される<sup>17,18)</sup>。

### 3.6 歯のバイオリサイクル医療のビジネス展開

抜去歯利用の骨再生治療は, 北海道医療大准教授 村田勝博士が発明した世界初の歯科医師提案型医療である。2009年, 韓国でKorea Bio-Tooth Service (KBTS) 社が設立され, 歯科医療機関から抜去歯を収集, 粉碎加工後, 返却する医療サービスがアジアで開始された。KBTSは, 韓国12の大学・歯科病院とネットワークを形成, Japan Bio-Tooth Service (JBTS), ロシア, タイと提携し, オーストラリア, シンガポール, マレーシア, 台湾, 欧米にも, 医療拠点を拡大している<sup>15)</sup>。

歯のバイオリサイクルシステムの普及と臨床応用を管理するため, 2010年, 韓国でKorea Auto-Tooth Bone Bank (KABB), 日本でJapan Auto-Tooth and Bone Bank (JABB: 会長; 長崎大学教授 朝比奈泉博士, 副会長; 北海道医療大学准教授 村田勝博士, 事務局; 高松歯科口腔外科クリニック 口腔外科医 三次正春博士) の学術団体が発足,

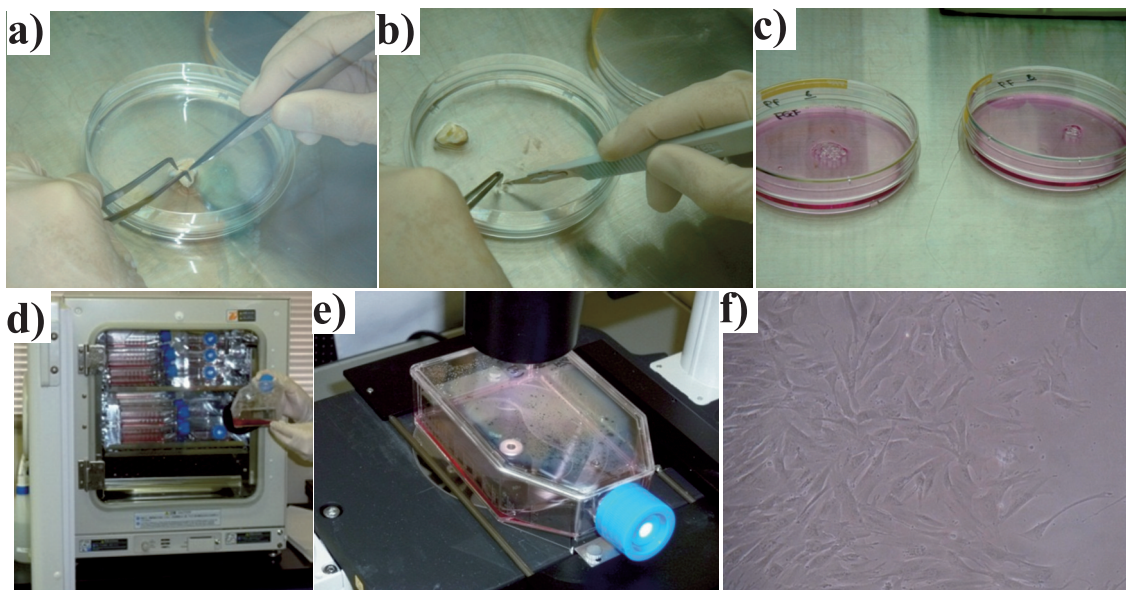


図15 ヒト抜去歯由来歯髄の細胞培養手順と培養組織

(a):歯髄採取, b):歯髄切断, c):抗菌薬含有リン酸緩衝液へ抽出, d):309.5K静置培養, e):光学顕微鏡観察, f):7日培養, DMEM培地;10% FBS (ウシ胎児血清), 100Unit・cm<sup>-3</sup> ペニシリン・ストレプトマイシン, 1.0μg・cm<sup>-3</sup> アンフォテリシンB, 10ng・cm<sup>-3</sup> FGF1 (線維芽細胞成長因子), 15μgヘパリン)



その姉妹提携が締結された。2011年12月、九州大学で第2回IABB国際会議が開催され、日本、韓国、中国、タイ、フィリピンから歯科医や研究者が集結し、歯移植やDDM医療の臨床例の紹介があり、その有効性、優位性が議論された。特に、韓国では、30,000症例の実績があり、親子間移植も安全に行われている<sup>19)</sup>。2012年12月には、北京大学で第3回IABB国際会議の開催が予定されている。

歯の冷却高速粉碎装置を使用した臨床治療を普及するためには、KBTS社と協調しながら、国内外大学、歯科医院との連携協力を深めたDDM顆粒デリバリーシステムの構築が重要であろう<sup>15)</sup>。今後、我々は、東京医科歯科大学、東京歯科大学、長崎大学、JBTS、JABB、北海道大学病院高度先進医療センターと臨床研究を実施すると共に、世界へ発信するDDM医療として英語版テキストの発行、北海道ラボラトリーの発足や医療材料調製サービス等を検討中である。

#### 4. 結 言

ヒト抜去歯をリサイクルして、粉碎、酸処理、表面改質により、骨再生に関わる臨床治療する医用技術を検証し、発展、普及する方法を検討した結果、下記の結論が得られた。

- 1) 旧歯用高速粉碎装置の問題点として、ZrO<sub>2</sub> 製容器の装着と取り出し、昇降台の操作、パネルの構成、台座の形状、装置カバー、運搬性等を改良し、新粉碎装置を設計・試作、製品化した。
- 2) 新歯用冷却高速粉碎装置を用いた抜去歯の30s粉碎では、歯槽骨等の再生に有効な粒度の顆粒が得られた。
- 3) 抜去歯由来粉碎顆粒は、微量の生体由来イオン含有HApとコラーゲン複合体であった。
- 4) 0.5~2.0% HNO<sub>3</sub> やHCl水溶液中10~60min攪拌・超音波処理により、溶解効率の異なるDDM顆粒を調製できた。
- 5) SBFに浸漬したDDM顆粒は、脱灰状態に依存して異なる形態とサイズのHAp微結晶の表面設計が可能であった。
- 6) 完全DDM顆粒のラット背部皮下組織への埋入では、2週後でDDM表層に巨細胞が少ないにも拘わらず体液浸透と吸収が認められ、4週後で顆粒表面に骨誘導が観察され、DDMの組織適合性と生体親和性が立証された。
- 7) 歯用冷却高速粉碎装置を用いた12,000rpm、5sの粗粉碎、または、歯用固定装置と加工具を用いた数分の切断により抜去歯から歯髄組織を採取できた。
- 8) 歯髄組織を切断、歯髄を抽出、309.5K、DMEM培地上で7日静置培養により、活発な紡錘状細胞が観察された。
- 9) 国内の大学、公立病院、歯科医院に加えて、韓国で歯のデリバリーシステムを構築したKBTS社との連携協力により、粉碎装置を用いた臨床治療・教育をアジアで普及した。

したがって、DDM顆粒活用の治療法は、患者の時間的・経済的負担が極めて低い実用的治療法であり、その即時移植治療は、大学・公立病院、歯科医院等への普及が予想される。また、歯髄細胞の利活用は細胞工学や医療産業への波及効果が大きく、歯髄細胞/HAp/DDM複合体の創製は、生体模倣材料の再生医療技術として、歯周病のみならず、難治療疾患の骨欠損部等の歯科・医科医療や高度先進医療への応用が期待される。

#### 引用文献

- 1) 赤澤敏之, 中村勝, 村田勝, 田崎純一, 日野純, 田畑泰彦, 山本雅哉, 埴隆夫, 菊地雅彦, 山近秀和, 田中勝, 大森哲也, 板橋孝至, 稲野浩行, 堀川弘善, 高橋英徳, 吉成哲, 奈良岡美穂, 米代武司, 第17回無機リン化学討論会講演要旨集 pp.116-117, (2007).
- 2) 村田勝, 赤澤敏之, 有末眞, 自己の組織を利用する新治療システム, 骨と歯の再生医療-生物学的原理・問題点とその指針-, 学際企画, pp97-106 (2007).
- 3) 赤澤敏之, 中村勝男, 村田勝, 日野純等, 日本セラミックス協会2007年年会講演要旨集, p.132 (2007).
- 4) T. Kawakami, Y. Kuboki, J. Tanaka, S. Hijikata, T. Akazawa, M. Murata, R. Fujisawa, H. Takita, M. Arisue, Regenerative Medicine of Bone and Teeth - with special references to biological principles, problems and their indicators-, Journal of Hard Tissue Biology, Vol.16, No.3, pp.95-113 (2007).
- 5) 村田勝, 赤澤敏之, 中村勝男, 新井実, 小野寺雄人, 齊藤隆史, 高度先進医療に応用できる抜去歯粉碎品, 抜去歯由来の脱灰粉体, 脱灰粉体とアパタイトとの複合体を調製する方法および粉碎機, 特許 第4953276号
- 6) 村田勝, 赤澤敏之, 患者までとどいている再生誘導治療-バイオマテリアル, 生体シグナル因子, 細胞を利用した患者のための再生医療の実際-, メディカルドウ, pp. 64-68 (2009).
- 7) M. Murata, T. Akazawa, M. Takahata, M. Ito, J. Tazaki, J. Hino, K. Nakamura, N. Iwasaki, T. Shibata, M. Arisue, Bone Induction of Human Tooth and Bone crashed by Newly Automatic Mill, Journal of the Ceramic Society of Japan, Vol. 118, No. 6, pp. 434-437 (2010).
- 8) 赤澤敏之, 村田勝, 日野純, 中村勝男等, 日本セラミックス協会東北北海道支部研究発表会, p.56 (2010).
- 9) M. Murata, T. Akazawa, M. Mitsugi, I. Um, K. Kim, Y. Kim, Human Dentin as Novel Biomaterial for Bone Regeneration, Biomaterials, INTEC, ISBN 978-953-307-418-4 (2011).



- 10) J. Tazaki, M. Murata, Y. Nakanishi, M. Ochi, T. Akazawa, S. Yodogawa, J. Hino, K. Ito, M. Arisue, T. Shibata, Simultaneous Implantation of Dental Implants and Autogenous Human Dentin, *Key Engineering Materials*, Vols. 493-494, pp. 426-429 (2012),
- 11) T. Akazawa, M. Murata, J. Hino, F. Nagano, K. Ito, K. Nakamura, T. Yamagishi, T. Shigyo, T. Nomura, H. Inano, K. Itabashi, S. Hidaka, A. Manjome, S. Iida, H. Kashiwazaki, Bioactive Surface Structure and Osteoinduction Controlled in Biomimetic Environment of Demineralized Dentin Matrix Granules Derived from Human Teeth, *Proceedings of the 6th Asian Science Seminar*, p.19, November 20-22, Taichung, Taiwan (2010).
- 12) T. Akazawa, M. Murata, Y. Minamida, J. Hino, J. Tazaki, S. Iida, H. Kashiwazaki, Bioactive Microstructure of Human Teeth Designed by a Supersonic Demineralization and Biomimetic Coating, *Proceedings of the 11th Asian BioCeramics Symposium*, O-018, November 30-December 2, Tsukuba, Japan (2011).
- 13) T. Akazawa, Surface Structure and Chemical Nature of Bioactive Composites Materials designed by Supersonic Demineralization and Biomimetic Precipitation of Human Teeth, *Proceedings of the 2nd International Auto-Tooth Bone Bank Symposium*, December 11, p.24-26, Fukuoka, Japan (2011).
- 14) T. Akazawa, M. Murata, J. Hino, F. Nagano, T. Shigyo, T. Nomura, H. Inano, K. Itabashi, T. Yamagishi, K. Nakamura, T. Takahashi, S. Iida, H. Kashiwazaki, Surface Structure and Biocompatibility of Demineralized Dentin Matrix Granules Soaked in Simulated Body Fluid, *Applied Surface Science*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433212000670> (2011).
- 15) 赤澤敏之, 稲野浩行, 執行達弘, 野村隆文, 山岸暢, 中村勝男, 日高青志, 万城目聡, 高橋徹, 三津橋浩行, 板橋孝至, 北海道医療大, 北大院歯, 岩手医科大, 東京医研究, ムトウ, 技術移転フォーラム2011-工業試験場成果発表会-発表要旨, pp. 29-31 (2011).
- 16) N. Okubo, A. Ishisaki, T. Iizuka, M. Tamura, Y. Kitagawa, Vascular Cell-Like Potential of Undifferentiated Ligament Fibroblasts to Construct Vascular Cell-Specific Marker-Positive Blood Vessel Structures in a PI 3 K Activation-Dependent Manner, *Journal of Vascular Research*, Vol. 47, No. 5, pp. 369-383 (2010).
- 17) T. Akazawa, M. Murata, J. Hino, K. Nakamura, M. Kikuchi, M. Mitsugi, I. Um, Surfaces Design and Functional Control of Demineralized Dentin Matrix Granules Derived from Human Teeth, *JABB Text in press* (2012)
- 18) T. Akazawa, M. Murata, J. Hino, K. Nakamura, J. Tazaki, M. Kikuchi, M. Arisue, Materials design and application of demineralized dentin/apatite composite granules derived from human teeth, *Archives of BioCeramics Research*, Vol. 7, pp. 51-54 (2007).
- 19) 三次正春, 村田勝, In-Woong Um, 朝比奈泉, 楠川仁悟, 赤澤敏之, 自家抜去歯を使用する新しい骨移植材 Auto-Tooth Bone, *ザ・クインテッセンス*, Vol. 30, No. 6, pp. 87-95 (2011)