

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463040

研究課題名(和文) ヒト唾液による歯科用銀合金腐食生成物の iPS / ES 細胞による発生毒性の検討

研究課題名(英文) Study of embryotoxicity using the iPS/ES cells of corrosion of dental silver alloy in human saliva

研究代表者

今井 弘一 (IMAI, Koichi)

大阪歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：90103100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔内環境での歯科用銀合金や金銀パラジウム合金の腐食生成物がヒトの発生に及ぼす影響は知られていない。組成イオンの銀、銅、スズなどはやや発生毒性が存在する可能性があり、腐食生成物では発生毒性レベルの変動を調べる必要がある。EST法はマウスES細胞と3T3細胞を用いて未知の化学物質によるヒト胎児の催奇形性を予測できる方法で、今回、ES細胞の他にマウス由来のiPS細胞も用いた。結果から、ヒト唾液や人工唾液で浸漬した合金表面で無処理の場合と細胞分化レベルで有意差が認められなかった。しかし合金表面に機械的な傷を付け、さらに塩酸と硫酸に浸漬した場合は組成元素の溶出量も多く、発生毒性の存在も懸念された。

研究成果の概要(英文)：The effects of the corrosion products of dental silver and gold- and silver-palladium alloys in the mouth on human development remain unclear. Metal ion compositions, such as silver, copper, and tin, are known to exhibit low-level embryotoxicity. The variations in embryotoxicity should be examined for the corrosion products of alloy surfaces. Using the Embryo Stem Cell Test (EST) protocol, the teratogenicity of unknown chemical substances in human fetuses can be predicted with mouse ES and 3T3 cells. In the present study, mouse iPS and ES cells were used. As a result, there was no significant difference in embryotoxicity between alloy surfaces treated or untreated with human or artificial saliva. However, mechanical scratching and subsequent immersion in hydrochloric and sulfuric acids markedly facilitated the elution of alloy elements from alloy surfaces, raising concerns about embryotoxicity.

研究分野：歯科理工学

キーワード：歯科用銀合金 ES-D3細胞 マウスiPS細胞 発生毒性 腐食 唾液 口腔 酸性環境

1. 研究開始当初の背景

(1) 我が国で歯科用合金として最も多く用いられているのは歯科用金銀パラジウム合金である。他方、銀スズ合金や銀インジウム合金も銀合金として使用される。生物学的安全性試験の中でも特殊毒性に分類される生殖・発生毒性試験、すなわち正常なヒト新生児誕生へのリスクについては、従来の生殖・発生毒性試験は全胚培養法などいくつかの *in vitro* 試験法が存在したが、動物実験による方法が主体であった。しかし、動物の種差や実験者の技量などの因子があり、正確な発生毒性リスクの検討が必ずしもなされて来なかった。

(2) 1997年に *in vitro* スクリーニング試験としての発生毒性試験が Embryonic Stem Cell Test (EST)法としてドイツ連邦で開発された。この方法の開発で、複雑で時間のかかる動物実験を用いずに簡便に発生毒性リスクを判定できることとなった。報告者は以前に平成12年度～13年度 日本学術振興会科学研究補助金(基盤研究(C)(2))、研究課題名:胎児の発生に及ぼす歯科材料の影響について(*in vitro*)で歯科用銀合金や歯科用金銀パラジウム合金成分の銀、スズ、銅などについてはやや発生毒性の疑いがあるという結果を得ている。その後、金属塩の種類によって発生毒性レベルが大きく異なることが判明し、合金のみならず、合金表面の腐食生成物に対する発生毒性のチェックが必要であるとの結論に至った。

2. 研究の目的

(1) 歯科用銀合金のヒトに対する生殖・発生毒性は正常なヒト新生児誕生に非常に重要な項目であると考えられる。

(2) 歯科用銀合金はヒトの催奇形性に影響を与える可能性についての具体的なデータは現在までに得られていない。しかし、過去にはこれらの組成イオンの中には "weak embryotoxicity" の可能性があるという判断がなされている。他方、化合物の種類によって発生毒性レベルは大きく異なる場合がある。市販歯科用銀合金の腐食産物については全く確認されていない。そこで、人工的に腐食した合金表面での細胞分化レベルについて調べる目的で実験を行った。

3. 研究の方法

(1) 組成元素イオンの発生毒性

腐食生成物に発生毒性を調べる前段階における金属腐食物の基礎データとして、金属イオンそのものの発生毒性データが必要である。そのため、歯科用銀合金の組成元素イオンである、銀、金、パラジウム、銅、スズの EST 法による発生毒性試験を実施した。それぞれの金属元素の原子吸光度計用標準試薬を用いて発生毒性を検討した。各 1,000ppm の原液を 50ppm に PBS(-) で希釈し濾過滅菌を行った後、ES-D3 細胞 (図 1) と Bulb c/3T3

細胞 (以下、3T3 細胞、図 2) 用のそれぞれの培養液で倍数希釈して最終濃度 0.78ppm まで倍数希釈を行い各濃度の試験液を製作した。

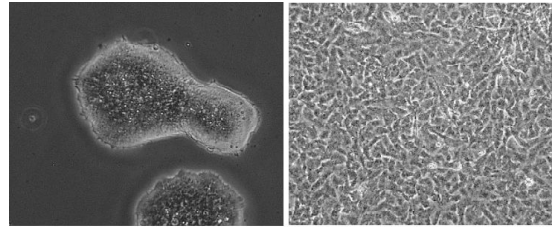


図1 ES-D3 細胞 100µm 図2 3T3 細胞 100µm

ES-D3 細胞の細胞分化培養

各試験液と陰性対照の培養液で細胞数 3.75×10^5 cells/mL に調整した ES-D3 細胞を 37 の炭酸ガス恒温器中に 3 日間懸滴培養を行った。その後、直径 6cm の細菌培養用ディッシュを使用して各細胞集団を集め、各試験液および陰性対照群の培養液を 5mL ずつ分注し、37 の炭酸ガス恒温器中でさらに 2 日間静置培養を行い Embryo Bodies (EBs) を製作した。

テラトーマ内の心筋鼓動の観察

24well ディッシュの各 well 内に 1mL ずつ各濃度の試験液と陰性対照の培養液を入れ、それぞれの well に各 1 個の EB を静かに入れ 7 日間静置培養を行った。倒立位相差顕微鏡を用いて観察した。各 well 中に存在するテラトーマ中で心筋の鼓動が認められた場合の well 数を全体の well 数の百分率から各金属元素の ID50 値を算出した。

ES-D3 細胞と 3T3 細胞の IC50 値の算出

各試験液または陰性対照群の培養液を 100 µL/mL 分注し 37 の炭酸ガス恒温器中で 3 日間静置培養した。各試験液を交換し、さらに 4 日間培養して MTT 法で IC50 値を算出した。

EST 法による発生毒性リスク

ES-D3 細胞の ID50 値と 2 種類の細胞の IC50 値をそれぞれ EST 法で定められた数式に代入して発生毒性リスクの程度を検討した。

(2) 歯科用銀合金試料の製作と腐食生成物の発生毒性リスクの検討

口腔内環境における歯科用銀合金の腐食生成物がヒトの発生に及ぼす影響を明らかにするために、市販歯科用銀合金(銀・スズ・亜鉛合金(S1: ミロシルバー、GC)および、銀・インジウム・亜鉛・他合金(S2: キャスティングシルバー-S、GC)ならびに 2 種類の市販歯科用金銀パラジウム合金(P1: 金パラ Nice12、P2: プライムキャスト 12、石福金属)を直径 8mm、厚さ約 1mm の円盤状試料を鋳造で製作した。なお、表 1 にそれぞれの組成を示す。円盤表面は最終 800 番の耐水ペーパーで仕上げた。人工唾液は Greenwood 氏(GW)の人工唾液を 100mL 製作した。また、臨床的に使用されるサリベート®(SA)も使用した(表 2)。ヒト唾液(HS)は 62 歳の男性の唾液を、濾紙、プレフィルター、0.22 µ

mのフィルターの3段階で濾過した。

表1 合金試料の組成(%)

銀スズ、銀インジウム合金					
	銀	亜鉛	スズ	インジウム	
S1	65	15	20	—	
S2	70.5	2.5	—	24	他 Ga, Pd

金銀パラジウム合金

金パラジウム銀銅					
	金	パラジウム	銀	銅	
P1	12	20	46.4	18.8	他 Ir, Zn, In, Ga
P2	12	20	48.2	17.7	他 Ir, Zn, In

表2 人工唾液の組成

Greenwood氏処方組成		サリベート® 組成	
組成	mg/1,000mL	組成	mg/1,000mL
KCl	2,400	NaCl	844
Ca ₃ (PO ₄) ₂	600	KCl	1,200
K ₂ HPO ₄	1,400	CaCl ₂	146
K ₂ SO ₄	900	MgCl ₂	52
Na ₃ PO ₄	800	K ₂ HO ₄	342
Albumin	5,000	(*他: カルボキシメチルセルロース, D-sorbitol, sodium benzoate, ソルビン酸等)	

人工唾液処理群ならびに唾液処理群は37の恒温器中で14日間浸漬した。なお、唾液は当初毎日交換する予定であったが、ほとんど濁りが認められなかったために7日間で新液を交換した。合金表面を流水で水洗した後に乾熱滅菌した。

ES-D3細胞とマウス由来iPS細胞(図3)に各細胞集団をそれぞれ集め、培養液5mL分注し、さらに2日間静置培養を行いEBsを製作した。他方、12well用cell culture insertを12wellディッシュにセットした。ブタ由来のタイプコラーゲン(新田ゼラチン)40mLに10倍濃度の細胞培養液10mLを混合した後、氷冷下で再構成用緩衝液(新田ゼラチン)10mLを混合したゾル状コラーゲンをディッシュに600μL分注した。細胞培養液3mLをcell culture insertとディッシュの間に分注し、insert内のコラーゲン上部に培養液50μLを分注し、ディッシュ中央にEBsを2つ置き、その上に合金の研磨面をEBsに接触するように置いた(図4)。5日間静置培養し、合金を剥がして心筋の鼓動を確認した。さらに、ES細胞分化検出キットのアルカリホスファターゼ染色も実施した。なお、サケ由来のコラーゲンも一部初期段階で使用したが、ブタ由来と同様な結果であり、すべてブタ由来のコラーゲンで実験データを得た。

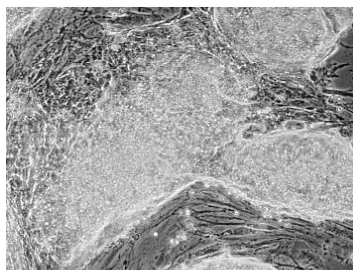


図3 マウス由来iPS細胞 100μm

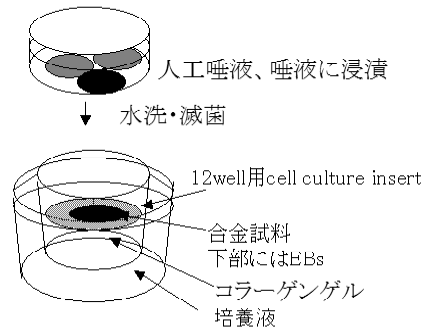


図4 コラーゲンゲル内培養法

(3) 歯科用金銀パラジウム合金表面の酸による腐食生成物の発生毒性リスクの検討

歯科用銀合金試料の製作と腐食生成物の発生毒性リスクの検討の結果、歯科用金銀パラジウム合金については合金表面に腐食物を堆積させることができなかった。そのため、合金表面に#220~2,000の耐水ペーパーを使用して傷を付けて5%希塩酸ならびに希硫酸に1週間浸漬して予備実験を行い、#400が最も表面に腐食生成物の堆積が確認できた。そこで、#400で均一に傷を付けるとともに5%希塩酸ならびに希硫酸に室温で1ヶ月静置浸漬した。また、浸漬溶液はICPで元素を測定した。希塩酸浸漬群ではやや表面に黒化が認められた。なお、希硫酸浸漬群では黒化はほとんどなかったが表面に若干の曇りが認められた。合金表面を洗浄し滅菌した。対照群は酸に浸漬していない合金とした。

ES-D3細胞でEBsを製作し、12wellのマルチディッシュ底面に合金表面を上面に置き、パラフィンワックスで固定した。培養液2mLを各wellに分注し、合金表面にEBsを2つピペットで置き、7日間静置培養した。他方、マウス由来iPS細胞でEBsを製作した。なお、iPS細胞はfeeder細胞が必要で、市販のMEF細胞(Reprocell, 神奈川)を用いた。iPS細胞から製作したEBsを合金表面の中央に2つ置き、7日間静置培養した。

一方、合金表面の細胞毒性試験としてES-D3細胞を各wellに2mLずつ播種して37の炭酸ガス恒温器中に7日間静置培養後、MTT法で測定した。

4. 研究成果

(1) 組成元素イオンの発生毒性

歯科用銀合金の組成元素イオンである銀、金、銅、パラジウム、スズのES-D3細胞のID50値の結果は図5に示す。ID50値は最も細胞毒性が強かった銀で0.7ppm、続いて銅で1.2ppm、以下、スズ、金、パラジウムの順番で細胞毒性は弱くなった。なお、最も弱いパラジウムでも2.9ppmであった。他方、ES-D3細胞と3T3細胞のそれぞれの細胞毒性試験の結果は図6に示す。また、ES-D3細胞のIC50値は最も強い銀で0.8ppm、続いてスズで2.1ppm、

銅で 3.4ppm、金とパラジウムはいずれも 3.7ppm であった。また、3T3 細胞では銀が最も強く 0.8ppm、続いてスズで 1.9ppm、銅で 2.8ppm、金で 3.3ppm、パラジウムで 3.6ppm であった。いずれも発生毒性が認められなかったが、銀のみ発生毒性が存在する可能性に近い値を示した。いずれも ES-D3 細胞で ID50 値が IC50 値よりもやや大きな値を示し、さらにアダルトの細胞である 3T3 細胞と ES 細胞である ES-D3 細胞の IC50 を比較して、ES-D3 細胞が極端に IC50 値が 3T3 細胞より低い値を示さなかったことは特異的に ES 細胞に影響が大きいことが認められなかった。今回、用いた原子吸光用の標準試薬は、金とパラジウムは塩酸、その他は硝酸を用いて溶解している。原液の色調は金ではやや黄色、パラジウムはやや茶色で、他は無色であった。pH 指示薬が嵌合されている培養液を用いて希釈した各試験液の液色にはほとんど肉眼的に変化が見られず、pH による結果への影響はほとんどなかったと判断した。今回、完全にイオン化した金属イオンでの発生毒性について調べた。以前の研究でもやや異なるものの類似のデータを得ているが、1997 年に入手した ES-D3 細胞であるため、細胞分化のクオリティについて確認したこと、ならびに今回の表面腐食の基準となるデータを得る目的から実験を行った。

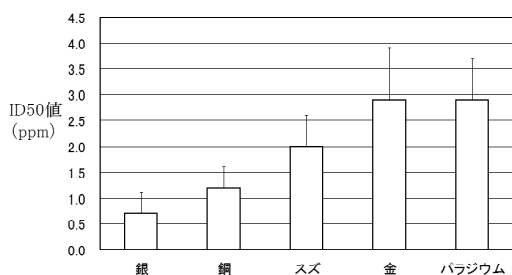


図5 各組成金属元素イオンのES-D3細胞のID50値 (Var=SD)

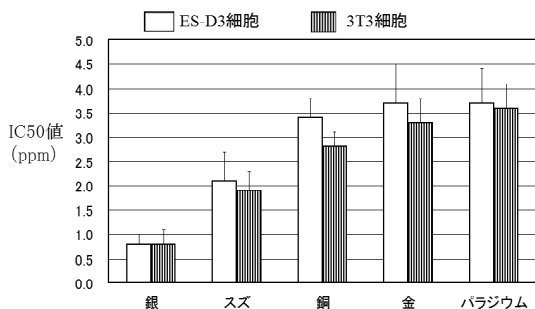


図6 各組成金属元素イオンによる2種類の細胞のIC50値 (Var=SD)

(2) 歯科用銀合金試料の製作と腐食生成物の発生毒性リスクの検討

2種類の人工唾液処理群と対照群のカラーゲルを用いた ES-D3 細胞と iPS 細胞の細胞分化の結果は図 7 に示す。人工唾液 (GW) では ES-D3 細胞で歯科用銀合金の S1、S2 ではそれぞれ 56.5%、58.3% であった。ES-D3 細胞の対照群では 77.3% であったため、対照

群の百分率ではそれぞれ 73.1%、75.5% であった。しかし、歯科用金銀パラジウム合金の P1、P2 では ES-D3 細胞でそれぞれ 69.6%、73.9% であった。しかし、対照群の百分率ではそれぞれ 90.0%、95.7% と対照群と有意差が認められなかった。そのため、EBs では合金表面の接着面積が少ないため、腐食表面との接着面積を大きくするように ES-D3 細胞の EBs を製作せずに、ES-D3 細胞を直接播種する方法で試行したが、対照群と有意差が認められなかった。iPS 細胞で歯科用銀合金の S1、S2 ではそれぞれ 31.8%、36.4% であった。iPS 細胞の対照群では 50.0% であったため、対照群の百分率ではそれぞれ 63.6%、72.7% であった。歯科用金銀パラジウム合金の P1、P2 では iPS 細胞でそれぞれ 47.6%、47.8% であり、対照群の百分率ではそれぞれ 95.2%、95.6% と対照群と有意差が認められず、また ES-D3 細胞と同様な傾向を示した。人工唾液 (SA) では ES-D3 細胞で S1、S2 でそれぞれ 54.5%、45.5%、P1、P2 でそれぞれ 96.3%、106.9% を示した。iPS 細胞で S1、S2 でそれぞれ 50.0%、57.1%、P1、P2 でそれぞれ 75.0%、100.0% を示した。Greenwood 氏人工唾液の場合と同様に金銀パラジウム合金表面の場合に優位差が認められなかった。Greenwood 氏人工唾液同様の傾向であったがいずれも値はやや低下した。ヒト唾液 (HS) では ES-D3 細胞で S1、S2 でそれぞれ 15.2%、30.3%、P1、P2 でそれぞれ 66.7%、55.6% を示した。iPS 細胞で S1、S2 でそれぞれ 0%、62.5%、P1、P2 でそれぞれ 62.5%、50.0% を示した。ヒト唾液の場合は細胞にかなり影響があり値が小さく、人工唾液とは異なった結果を示した。しかし両人工唾液の結果と傾向は類似した。また、アルカリホスファターゼ染色結果は人工唾液、ヒト唾液ともに対照群を含めていずれの実験群でも染色されず対照群と有意差が認められなかった。ES-D3 細胞、iPS 細胞での細胞分化が進んだことへの傍証となった。

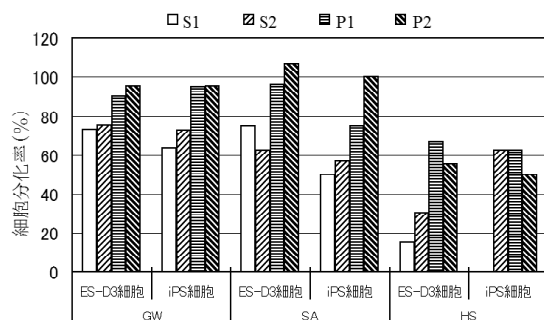


図7 ES-D3細胞とiPS細胞の細胞分化率

(3) 歯科用金銀パラジウム合金表面の酸による腐食生成物の発生毒性リスクの検討

2種類の歯科用金銀パラジウム合金について、酸浸漬した溶液の ICP での元素分析結果を表 3 に示す。なお、酸浸漬は 30 日後の分析結果を示す。P1、P2 とともに希塩酸浸漬群

では銅が最も多く、以下、パラジウム、金、銀、亜鉛、ガリウム、インジウムの順でイリジウムは検出されなかった。また、希硫酸浸漬では銀が最も多く、銅、パラジウム、金、亜鉛、ガリウム、インジウムの順で希塩酸浸漬と同様にイリジウムは検出されなかった。若干、P2 が P1 より溶出元素量が少ない傾向があるのは耐水ペーパーの#400 での表面研磨の影響が考えられる。

表 3 2 種類の酸に浸漬した溶液の ICP での元素分析結果

	金	銀	銅	パラジウム	亜鉛	インジウム	ガリウム	イリジウム ($\mu\text{g/g}$)
希塩酸処理								
P1	30	5.7	57	46	3.9	0.26	0.87	0.6未満
P2	20	4.1	37	30	2.5	0.16	0.54	0.6未満
希硫酸処理								
P1	9.3	47	19	16	1.3	0.09	0.31	0.6未満
P2	4.2	17	8.0	7.0	0.81	0.05	0.17	0.6未満

表面研磨のみの合金を対照群として、2 種の酸に浸漬後の ES-D3 細胞ならびに iPS 細胞の EBs から分化したテラトーマ内の心筋鼓動を調べた。その結果、合金表面を金属顕微鏡でテラトーマ内の拍動が観察され希塩酸群で対照群の約 2 割、希硫酸群で対照群の約 1 割の値であることが予備実験で確認されたが、金属顕微鏡で反射光源で観察することが非常に難しかった。そのため正確な値を得るために、両細胞を 0.2% トリプシン / EDTA 溶液で剥離して、12well 内で 2mL 培養液とともに 37 の恒温器中で 7 日間培養し心筋拍動率は、P1、P2 の希塩酸浸漬群でそれぞれ 12.5%、8.3% であった。また、P1、P2 の希硫酸浸漬群ではそれぞれ 10.0%、6.67% であった。これらの値は合金表面上ではなく、細胞を剥がして別容器で細胞回復をされた状態のものである。歯科用金銀パラジウム合金では酸浸漬によって表面に腐食層が ES-D3 細胞と iPS 細胞の細胞分化に大きな影響を及ぼすことが確認できた。

各実験の結果から歯科用銀合金では鑄造直後の場合とは異なる口腔内等の腐食によってできた腐食層によって発生毒性の結果に影響を及ぼすことが判明した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 15 件)

Imai K, Nishitani Y, Hoshika T, (他 10 名、1 番目)、Study of embryotoxicity of commercial dental gold-silver-palladium alloy by corrosion using acid and artificial saliva, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、13 巻、2015、77 - 84
DOI:10.11223/jarde.13.77

Imai K, Nishikawa T, Okamura T, (他 10 名、1 番目)、Study of the mutagenicity of prototype Ag-In, porcelain bonding and

Au-Ag-Pd alloys containing indium using the umu-test, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、13 巻、2015、27 - 33
DOI:10.11223/jarde.13.27

Imai K, Miyake T, Tamura I, (他 9 名、1 番目)、Influence of the ES-D3 cell differentiation and cell viability rate by the 6 essential amino acids adding in the minimum essential medium, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、13 巻、2015、10 - 17
DOI:10.11223/jarde.13.10

Imai K, Shirai T, Ishikawa H, (他 7 名、1 番目)、Preliminary experimental study by the cell differentiation and a cell viability on the cell culture environment with the linear structures of nylon fiber bundles, *Nano Biomed*, 査読有、7 巻、2015、5 - 10
DOI:10.11344/nano.7.5

Imai K, Nishikawa T, Okamura T, (他 7 名、1 番目)、Effects of C60 fullerene on cell differentiation with EL-M3 and ES-R1-EGFP B2/EGFP cell lines, *Nano Biomed*, 査読有、6 巻、2014、78 - 84
DOI:10.11344/nano.6.78

Imai K, Suese K, Honda Y, (他 5 名、1 番目)、*In vitro* study of cell differentiation by two type mouse embryo stem cells on the dental adhesives, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、12 巻、2014、85 - 92
DOI:10.11223/jarde.12.85

Imai K, Takashima H, Effects of the distance from the sample to cell layer in three-dimensional tissue model, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、12 巻、2014、20 - 26
DOI:10.11223/jarde.12.20

Imai K, Takashima H, Study on the possibility of cell growth in tissue culture medium containing artificial saliva, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、12 巻、2014、8 - 12
DOI:10.11223/jarde.12.8

Imai K, Shirai T, Watari F, (他 9 名、1 番目)、Influence of MWCNTs to myocardial contraction rhythms on differentiation of ES-D3 cells in three-dimensional culture, *Nano Biomed*, 査読有、6 巻、2014、27 - 34
DOI:10.11344/nano.6.27

Imai K, Nakamura K, Tanoue A, (他 6 名、1 番目)、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*, 査読有、11 巻、2013、51 - 56
DOI:10.11223/jarde.11.51

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*, 査読有、3 巻、2013、75 - 78

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*, 査読有、18 巻、2013、33 - 38
DOI:10.11232/aatex.18.33

Imai K, Nishikawa T, Okamura T, (他 5 名、1 番目), Embryotoxic potential of the dental adhesives by the cell differentiation culture with the embryonic stem cell test, *J Oral Tissue Engin*, 査読有、11 巻、2013、148 - 153
DOI:DOI:10.11223/jarde.11.148

Imai K, Watari F, Akasaka T, (他 4 名、1 番目), An attempt to study of the embryotoxicity by the diamond particles of dental diamond points with the embryonic stem cell test, *Nano Biomed*, 査読有、5 巻、2013、104 - 108
DOI:10.11344/nano.5.104

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*, 査読有、5 巻、2013、44 - 49
DOI:10.11344/nano.5.44

〔学会発表〕(計 10 件)

今井 弘一, 新しいインプラントの未来永劫の発展を目指して、バイオインテグレーション学会第 6 回学術大会、2016 年 3 月 12 日、大阪歯科大学百周年記念館 (大阪府・大阪市)

今井 弘一, 白井 翼, 石川 敬彬, ヒトの代謝活性因子を導入した歯科用合金組成元素の発生毒性試験法、第 11 回ナノ・バイオメディカル学会、2015 年 10 月 31 日、石巻専修大学 (宮城県・石巻市)

今井 弘一, 白井 翼, 人工唾液による歯科用合金パラジウム合金腐食生成物の *in vitro* 発生毒性の検討、第 13 回日本再生歯科医学会、2015 年 8 月 29 日、日本歯科大学新潟生命歯学部 (新潟県・新潟市)

今井 弘一, 白井 翼, 本田 義知, 高島 宏昌, マウス子宮ならびに卵管由来の初代細胞をフィーダー細胞とした ES 細胞による発生毒性試験の試み、第 12 回日本再生歯科医学会学術大会、2014 年 8 月 26 日、徳島大学蔵本キャンパス (徳島県・徳島市)

今井 弘一, 白井 翼, 本田 義知, 亘理 文夫, 高島 宏昌, MWCNTs の 3 次元培養での胚性幹細胞から分化した心筋様細胞の拍動リズムの異常について、第 12 回日本再生歯科医学会学術大会、2014 年 8 月 26 日、徳島大学 蔵本キャンパス (徳島県・徳島市)

Imai K, Honda Y, Nakamura K, Tanoue A, Takashima H. *In vitro* embryotoxicity test using new feeder cells derived from the mouse uterus and oviduct, 日本組織培養学会第 87 回大会、2014 年 5 月 30 日、星陵会館 (東京都・千代田区)

今井 弘一, 武田 昭二, 高島 宏昌, ES 細胞の 3 次元培養による WNCNT の *in vitro* 発生毒性について、第 8 回ナノ・バイオメディカル学会大会、2014 年 5 月 2 日、ホテルグランピア和歌山 (和歌山県・和歌山市)

今井 弘一, 武田 昭二, 高島 宏昌, 3 次元スキャフォードを用いた金銀パラジウム合金組成元素イオンの発生毒性、第 63 回日本歯科理工学会、2014 年 4 月 13 日、タワーホール船堀 (東京都・江戸川区)

今井 弘一, 再生医療における胚性幹細胞の有用性, 応用と将来展望、北海道大学大学院歯学研究セミナー、北海道歯学会例会、2014 年 1 月 31 日、北海道大学歯学部 (北海道・札幌市)

今井 弘一, 末瀬 一彦, 本田 義知, 高島 宏昌, マウス子宮ならびに卵管由来の初代細胞を feeder layer とした場合における ES 細胞分化への影響、日本動物実験代替法学会第 26 回大会、2013 年 12 月 20 日、京都テルサ (京都府・京都市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井 弘一 (IMAI, Koichi)
大阪歯科大学・歯学部・教授
研究者番号: 90103100

(3) 連携研究者

武田 昭二 (TAKEDA, Shoji)
大阪歯科大学・歯学部・名誉教授
研究者番号: 19592270