

## 分担研究報告書

平成 24 年度厚生科学研究費補助金（地球規模保健課題推進）研究事業  
国際標準化機構（ISO）及び国際電気標準会議（IEC）における医療機器の各種国際規格の  
策定に関する研究（H23-地球規模-指定-003）

### 分担研究課題名

医療機器に係る工学的見地からの具体的事例に関する研究

研究代表者	齋島 由二	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
研究分担者	小野 哲章	滋慶医療科学大学院大学 医療管理学研究科 医療安全管理専攻
研究協力者	小倉 英夫	日本歯科大学新潟生命歯学部歯科理工学講座
	大熊 一夫	日本歯科大学新潟生命歯学部歯科理工学講座

### 研究要旨

本研究では、国際標準化活動に対する国家的なサポート体制を構築し、標準化に関する戦略的な考え方や提案可能な具体的な基準等について取りまとめ、政策的な提言を行うことを目的としている。その一環として平成 24 年度は、発信すべき医療機器・技術・手法の新規提案を行うため、2つのケーススタディを実施した。

昨年度から実施している歯科用 CAD/CAM マシンで作製する修復物の精度に関する新しい評価方法の提案に関するケーススタディでは、ISO/TC106/SC9/WG1 への提案規格である「ISO/FDIS 12836:Dentistry – Digitizing devices for CAD/CAM systems for indirect dental restorations – Test methods to assess the accuracy」が平成 24 年 8 月に実施された投票において承認され、本年 10 月 1 日に ISO 規格として発行された。本年度は、本規格に次ぐ新たな規格として、「Accuracy of machined indirect restorations – Test methods and marking」に関する検証データを収集し、本年 10 月に開催された ISO/TC106/SC9 総会において新規提案に向けた概要説明を行い、平成 25 年 1 月に本新規規格に関する WD を ISO 事務局に提出した。また、今年度は将来の標準化を視野に入れて新たなケーススタディを立ち上げ、溶血性試験用陽性対照材料の開発に向けて基礎データを収集した結果、Genapol X-080 含有ヒートプレス PVC シートが良好な陽性対照材料として利用できることを見出した。また、本事業において別グループ（松岡班）が実施しているケーススタディである「ISO/TC194/WG9 溶血性試験ラウンドロビントテスト支援研究」に寄与するため、本研究において開発した陽性対照材料を試料として提供し、その性能を詳細に確認した。

#### A. 研究目的

本研究では、医療機器関係業界と連携を図りつつ、国際標準化に関する戦略的な考え方や提案可能な具体的な基準等に関する知見を収集することを目的として、関連する調査・研究を実施した。その一環とし

て、昨年度は発信すべき医療機器・技術・手法の新規提案について検討するため、国際標準化に関する実例として、「歯科用 CAD/CAM マシンで作製する修復物の精度に関する新しい評価方法」に関する規格を国際標準化するケーススタディを立ち上げ、

規格のベースとなるデータを取得する検証実験を行った。また、平成 23 年 9 月に開催された ISO/TC106 総会(フェニックス会議)において、歯科用 CAD/CAM システムについて討議する新 SC の設立を日本が提案し、満場一致で承認された。同時に新 SC は Convener (日本歯科大 / 小倉英夫教授) 及び幹事国ともに日本が担当することに決定された。提案規格である「ISO/FDIS 12836 : Dentistry – Digitizing devices for CAD/CAM systems for indirect dental restorations – Test methods to assess the accuracy」は同 SC に設立された WG1 において協議され、平成 24 年 8 月に実施された投票において、賛成 12 カ国、反対 2 カ国の結果をもって、本年 10 月 1 日に ISO 規格として発行された。平成 24 年度は、本規格に次ぐ新たな規格を作成するため、「Accuracy of machined indirect restorations – Test methods and marking」に関する検証データを取得したと共に、平成 24 年 10 月に開催された ISO/TC106 総会(パリ会議)において NWIP に向けた概要説明を行った。

本ケーススタディのほか、平成 24 年度は新たなケーススタディを立ち上げた。厚生労働省医療機器審査管理室長通知 / 平成 24 年 3 月 1 日付け薬食機発 0301 第 20 号「医療機器の製造販売承認申請等に必要生物学的安全性評価の基本的考え方について」の別添において、細胞毒性試験及び埋植試験については、試験精度を確認するために対照材料を用いることとされている。一方、溶血性試験については対照材料が指定されていない。そこで本研究では、ISO/TC194 における将来の標準化を視野に入れ、基礎データを収集するために溶血毒として知られている各

種化合物のサーベイ試験において選定された化学物質を含有するポリ塩化ビニル (PVC) シートを調製し、抽出法及び直接法による溶血性試験を行い、陽性対照材料としての性能を評価した。また、本事業において別グループ(松岡班)が実施しているケーススタディである「ISO/TC194/WG9 溶血性試験ラウンドロビンテスト支援研究」に寄与するため、本研究において開発した陽性対照材料を試料として提供した。

## B . 研究方法

(1) ケーススタディ 1 「Accuracy of machined indirect restorations – Test methods and marking」

### 1-1. 検証実験

#### 1-1-1. 歯科用修復物の種類

CAM マシンで作製した精度評価用の歯科用修復物を以下に示した。

級インレー：小さなう蝕で咬合面だけに限局した修復物であり、この典型的な形態と寸法を決定し、金型を作製した(図 1)。

級インレー：小さなう蝕で咬合面と近心や遠心に伸びた修復物であり、この典型的な形態と寸法を決定し、金型を作製した(図 2)。

クラウン：大きなう蝕で冠のように被せる修復物であり、CAD/CAM のデジタイザーの精度分野で ISO/TC106 で新規提案されている形態と寸法を参考にして、金型を作製した(図 3)。

ブリッジ：歯を 1-2 本失った場合、前後

の歯をシリンダー状に切削して、全体を連結して歯牙欠損を補う修復物であり、クラウンと同様、CAD/CAM のデジタイザーの精度分野で ISO/TC106 で新規提案されている形態と寸法を参考にして、金型を作製した(図4)。

#### 1-1-2. CAM による修復物の作製

通常、三次元データは同データを ISO として規定し、このデータに基づいて作製された修復物の精度を計測する。しかし、各修復物の三次元データは各メーカーが独自に準備するため、同一修復物において必ずしも同じとは限らないことから、メーカー毎に CAM データを修正して、精確な修復物を作製した。

CAD/CAM で使用できる材料は、ワックス、セラミックス及び金属等、様々な種類が存在する。また、ブロックの形態も角柱や円板等があり、修復物の種類に応じて寸法も異なる。そこで、修復物の作製については、ブロックの形態や寸法を ISO で規定することなく、メーカーに全て任せた。

#### 1-1-3. 修復物の精度の測定と評価

従来、修復物の精度は高価な三次元測定装置を用いて測定していた。しかし、この方法では、どこの国でも簡単に精度を測定することは不可能である。そこで、CAM マシンで作製した修復物に対応する金型に装着し、金型の基準面と比較して、突出又は沈下した変位量として精度の測定を行った。金型には角度(テーパー)が付与されているため、CAM マシンで作製された修復物の拡大又は縮小率を小数点以下第一位までの精度(%)で評価した。

#### 1-2. ISO/TC106/SC9 への新規提案

平成 24 年 10 月に開催された ISO/TC 106/SC9 総会及び ISO/TC106/SC9/WG1 会議に出席し、本規格の新規提案に向けた事前説明を行った。

#### (2) ケーススタディ 2 「溶血性試験用陽性対照材料の開発と性能評価」

##### 2-1. サーベイ試験

ジフェニルジスルフィド及び Genapol X-080 をはじめとした 23 種類の化学物質(表 1)を候補として選択し、極性に応じて PBS 又は DMSO に 50mM の濃度で溶解した。ウサギ脱線維血 1ml を遠心分離し、得られた赤血球画分を PBS で 3 回洗浄後、同容量の PBS に懸濁させて血液試料とした。PBS 2ml に被験物質(終濃度 50 又は 500 $\mu$ M)及び血液 40 $\mu$ l を添加し、37 でインキュベートした。1、2 及び 4 時間後に試験混液 0.5ml を採取し、遠心分離した後、遠心上清の 413nm における吸光度を測定して溶血性を評価した。

##### 2-2. 可塑化 PVC の調製

ジエチルヘキシルフタレート(DEHP) 30g に PVC パウダー 50g をスパーテルで攪拌しながら緩やかに加え、均一な状態になるまで混和した。混和物を室温から徐々に 100 まで加熱した後、スパーテルで十分に混和した。再度、混和物を 100 で 3 分間加熱し、混和する操作を 3 回繰り返した後、放冷して可塑化 PVC を調製した。

##### 2-3. 化学物質含有 PVC シートの調製と性能評価

化学物質含有 PVC シートはヒートプレス法(180 )又はキャスト法(THF)に

より作製した。可塑化 PVC への各化合物の混合比は 100 パーツの PVC に対して、0.01、0.1、1 及び 10 パーツとした。化学物質含有 PVC シート（表裏総計 12cm<sup>2</sup>）を裁断後、PBS 2ml を添加してオートクレーブ抽出（121 / 15 分）を行った。同抽出液 1ml に血液 20 $\mu$ l を添加し、上記と同様の溶血試験を実施した。また、PBS 2ml と血液 40 $\mu$ l の混液に裁断した PVC シート（表裏総計 12cm<sup>2</sup>）を添加し、直接法による溶血性も評価した。ジフェニルジスルフィドは親水性に劣るため、PBS の代替溶媒として 10% DMSO を使用した実験も行った。

#### 2-4. 松岡班との連携

本研究において作製した Genapol X-080 含有ヒートプレス PVC シートを陽性対照材料として提供し、ASTM 法、NIH 法及び我が国の「医療機器の生物学的安全性試験法ガイダンス / 血液適合性試験」等の各種公定法に準拠した試験を実施した（松岡班分担研究報告書参照）。

### C . 研究結果

#### (1) ケーススタディ 1「Accuracy of machined indirect restorations – Test methods and marking」

##### 1-1. 金型を使用した精度測定

###### 1-1-1. 級インレー

CAM マシンで作製した 級インレーが金型より大きくなった場合、金型にインレーを装着すると、図 5 右側に示したように、インレーは基準線（Baseline）より突出した（+A）。この金型には 6° のテーパーが付与されているため、小数点以下第一位までの精度で拡大率を測定することが可能であった。また、 級インレ

ーが金型より小さくなった場合、インレーを装着すると、図 5 左側に示したように、インレーは Baseline より沈下（-A）したため、同様に収縮率を測定することができた。

###### 1-1-2. 級インレー

CAM マシンで作製した 級インレーが金型より大きくなった場合、金型にインレーを装着すると、図 6 に示したように、インレーは Baseline より突出した（+A,+B）。この金型には 8° のテーパーが付与されているため、小数点以下第一位までの精度で拡大率を測定することが可能であった。また、 級インレーが金型より小さくなった場合、インレーを装着すると、図 7 左側に示したように、インレーは窩底で接し、Baseline より沈下しない。窩底を取り除くことにより、インレーは基準線より沈下（図 7 右側：-A,-B）するため、収縮率を測定することが可能であった。

###### 1-1-3. クラウン

CAM マシンで作製したクラウンが金型より小さくなった場合、金型にインレーを装着すると、図 8 右側に示したように、クラウンは Baseline より突出した（+A）。この金型には 16° のテーパーが付与されているため、小数点以下第一位までの精度で収縮率を測定することが可能であった。また、クラウンが金型より大きくなった場合、金型にクラウンを装着すると、図 9 左側に示したように、クラウンは Baseline に接するため、沈下しない。図 9 中央に示したように、この金型はショルダー部を取り外すことができる構造に設計しており、ショルダー部を除去するこ

とにより、クラウンは基準線より沈下(図9右側: +A) するため、拡大率を測定できた。

#### 1-1-4.ブリッジ

CAM マシンで作製したブリッジが金型より小さくなった場合、金型にブリッジを装着すると、図10に示したように、クラウンはBaselineより突出した(+A)。この金型には16°のテーパーが付与されているため、小数点以下第一位までの精度で収縮率を測定することが可能であった。また、ブリッジが金型より大きくなった場合、ブリッジを装着すると、図11左側に示したように、ブリッジはBaselineに接するため、基準線より沈下しない。ショルダー部を取り除くことにより、クラウンは基準線より沈下(図11右側: -A, -A7) するため、拡大率を測定できた。

#### 1-2. ISO/TC106/SC9 への新規提案

2012年10月4日に開催されたISO/TC106/SC9/WG1 (CAD/CAM systems)会議において、歯科用修復物の精度の評価方法に関する規格の新規提案に向けた事前説明を行った。その際の討議結果を踏まえてWDを作成し、平成25年1月にISO事務局に提出した(別添資料)。

他国からも以下の規格に関する事前説明が行われた。

- Test methods for CAD/CAM produced restorations (ドイツ)
- Technical file for CAD/CAM produced restorations (ドイツ)
- Composite cements for CAD/CAM restorations and machinable zirconia

ceramics (米国)

- Interoperability of CAD/CAM systems (韓国)

これらの事前説明は急遽実施されたことから、歯科業界におけるCAD/CAMへの関心が高いことが分かった。2013年に開催されるISO/TC106ソウル会議において、今回提出したWDが討議される予定である。

#### (2) ケーススタディ 2 「溶血性試験用陽性対照材料の開発と性能評価」

##### 2-1. 陽性対照材料の開発

試験対象化学物質(23種類)の溶血性を評価した結果、図12に示したように、ジフェニルジスルフィドとGenapol X-080はそれぞれ500及び50 $\mu$ Mの濃度で顕著な溶血性を示したが、その他21種類の化合物の溶血率は4時間インキュベーション時でも最大30%程度であった。ジフェニルジスルフィドの溶血性は60-90 $\mu$ Mの濃度範囲で用量依存的に増加し、90 $\mu$ Mで4時間インキュベートした時の溶血率は81%に達した(図13a)。Genapol X-080は25 $\mu$ Mから溶血性を示し、40 $\mu$ M以上で完全溶血したため(図13b)、ジフェニルジスルフィド及びGenapol X-080を陽性対照材料用化学物質として選定した。

図14に示したように、0.01及び0.1パーツのGenapol X-080を添加したヒートプレスPVCシートは溶血性を示さなかったが、1パーツ含有シートは4時間インキュベーション時に弱溶血を示した(溶血率:抽出法37%、直接法27%)。また、10パーツ添加シートは強溶血を示し、抽出法及び直接法ともに1時間インキュベーションにより完全溶血した(図14)。

ジフェニルジスルフィドの溶血能は、

乾燥条件下 200 で 15 分間加熱しても保持されていたが、ジフェニルジスルフィド含有ヒートプレス PVC シートは 10 パーツ添加時でも、PBS を用いた抽出法及び直接法ともに顕著な溶血性を示さなかった。

## 2-2. 各種公定法による性能評価

Genapol X-080 含有ヒートプレス PVC シートは、ASTM 法、NIH 法及び我が国の試験法においても用量依存的な溶血性を示し、精度管理を目的とした陽性対照材料としての基本性能を有することが確認された（松岡班分担研究報告書参照）。

### D. 考 察

#### (1) ケーススタディ 1

測定の精度を向上させるために、各種歯科用修復物を一定の圧力、一定の方向で金型に圧接することは重要なことである。そこで本研究において実施したケーススタディ 1 では、図 15 に示したように、各金型に修復物を装着させるための治具を考案した。

WD から IS 化する過程において、再度、三次元測定装置を用いて精度を測定する必要があることを国際会議において討議する予定である。これは、三次元測定装置が大変高価であると共に、歯科用修復物のような小さな精度を評価するために使用されていない状況にも拘わらず、別の工業会から歯科分野に参入するメーカーが同装置による精度評価を要請する可能性があることに由来する。いずれにしても、同規格の国際標準化においては金型を用いた精度測定方法の優位性を示すことになる。

図 16 に示した 級インレーやクラウンの線角（矢印部分）は、バイトを用いた

CAM マシンにより切削することが不可能な部位である。この線角部の処理については、1) 金型の当該部を初めから丸めておく方法、2) 切削データで修正しておく方法等を提示する必要があると思われる。

#### (2) ケーススタディ 2

非イオン性界面活性剤である Genapol X-080 は膜毒性を示す化学物質であり、臨界ミセル濃度を境として顕著な溶血性を示す。Genapol X-080 含有ヒートプレス PVC シートは、抽出法及び直接法ともに用量依存的な溶血活性を示し、1 パーツ添加時に弱溶血性、10 パーツ添加時に強溶血性を呈することが確認されたことから、有益な陽性対照材料として使用できる可能性が示唆された。

本研究では、溶血性試験系として簡易測定法を適用した。松岡班が行っている「ISO/TC194/WG9 溶血性試験ラウンドロビンテスト支援研究」に寄与すると共に、Genapol X-080 含有ヒートプレス PVC シートの性能を更に詳細に評価するため、松岡班において各種公定法を用いた試験を実施した結果、Genapol X-080 含有ヒートプレス PVC シートは、いずれの試験法においても良好な性能を示したことから、陽性対照材料として利用できることが明らかとなった。今後、陽性対照材料からの化学物質の溶出挙動、ヒト及び動物血液間における感度の相違、赤血球の形態観察等を実施することにより、将来、新規規格として提案するための検証データを収集する。

ジフェニルジスルフィドはヘモグロビン酸化を伴う溶血毒であり、その溶血能は乾燥条件下 200 で 15 分間加熱しても

保持されていたが、ヒートプレス法により作製した PVC シートは溶血性を示さなかった。本結果から、可塑化 PVC との加熱成形時にジフェニルジスルフィドが分解若しくは PVC (又は DEHP) と縮合する可能性が示唆されたため、加熱処理を伴わないキャスト法によりジフェニルジスルフィド含有 PVC シートを再調製した。また、ジフェニルジスルフィドは親水性に劣るため、PBS の代替溶媒として 10% DMSO を使用して溶血性試験を行ったが、ジフェニルジスルフィドの添加量と各キャストシートが示す溶血率との間には明瞭な用量依存性が認められなかった。本結果から、ジフェニルジスルフィド含有 PVC シートは溶血性試験用陽性対照材料として利用できないことが判明した。ジフェニルジスルフィド含有 PVC シートが理論的な溶血性を示さない理由は不明であるが、ジフェニルジスルフィドは反応性に富むスルフィド結合を有する化学物質であるため、基材である可塑化 PVC と相互作用する可能性を否定できない。ジフェニルジスルフィド自体は用量依存的に顕著な溶血性を示すため、添加化学物質として有用であるが、ジフェニルジスルフィド含有陽性対照材料の作製については、今後、可塑化 PVC 以外の基材を利用する必要があると思われる。

#### E . 結 論

歯科分野に関するケーススタディ 1 では、新規規格「Accuracy of machined indirect restorations – Test methods and marking」の提案に向けた事前説明を ISO/TC106/SC9/WG1 会議において行い、平成 25 年 1 月に同規格に関する WD を ISO 事務局に提案・提出した。

溶血性試験用陽性対照材料の開発と性能評価に関するケーススタディ 2 では、Genapal X-080 含有ヒートプレス PVC シートが陽性対照材料として利用できることが明らかになった。

F . 健康危険情報  
特になし。

#### G . 研究発表

- 1) 藪島由二, 福井千恵, 柚場俊康, 松岡厚子. 溶血性試験用陽性対照材料の開発と性能評価. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2012 (2012 年 11 月, 仙台).
- 2) Kazama M, Ohkuma K, Ogura H. The new method to fabricate ceramic crown copings from full-sintered zirconia using Nd-YVO<sub>4</sub> nsec laser. 日中歯科医学会 2012 (2012 年 4 月, 成都).
- 3) 風間未来, 大熊一夫, 小倉英夫. Nd-YVO<sub>4</sub> レーザーを用いたジルコニアコーピングの新しい加工法 照射条件と加工精度 . 第 60 回日本歯科理工学会学術講演会 (2012 年 10 月, 福岡).

参照資料 : 特になし