

幹細胞再生医療研究部

(1) 構成員

部長 中島 美砂子

室長 庵原 耕一郎

流動研究員

村上 真史

Ahmed Nermeen

外来研究員

渥美 優介

研究生

林 勇輝

藤田 将典

河村 玲

中山 英典

大桑 雄太

研究補助員・事務補助員

富永 三千代

長井 綾乃

廣川 順子

加藤 晶子

浅井 小百合

山口 共子

松倉 紀子

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

歯髄幹細胞自家移植による抜髄治療後の歯髄・象牙質再生治療の臨床研究の有効性を評価するための、多施設臨床研究の準備を行った。すなわち、多施設臨床研究の再生医療等提供計画書を作成し、特定再生医療等委員会へ提出した。

歯科用ナノバブル発生装置を開発し、ナノバブル薬剤導入法によるイヌ歯髄幹細胞自家移植による感染根管治療後の歯髄・象牙質再生治療の有効性を検討した。

同種移植による抜髄後の歯髄・象牙質再生治療の有効性を検討した。

歯髄幹細胞を安定に増幅する最適な培養法（微小重力、低酸素）を検討した。

高齢者の組織再生を促進させる因子 RSF (regeneration stimulating factor) 候補因子 1 (CCL11 中和抗体) あるいは候補因子 2 (物質 A) をそれぞれ高齢マウスあるいはイヌの歯に適用し、歯髄再生促進に成功した。その再生促進メカニズムを検討した。

他疾患の再生医療へ歯髄幹細胞の適用を拡大すべく、サル脳梗塞モデル、ラット坐骨神経切断モデルおよびラット間質性膀胱炎モデルへ移植し、それぞれ有効性を検討した。

優れた遊走能および血管新生能により高い組織再生能へと導く歯髄幹細胞から分泌される trophic 因子を解析した。また、歯内部の歯髄を再生させる微小環境をマウス異所性歯根移植の歯髄再生モデルを用いて検討した。

幹細胞再生医療研究部：中島美砂子、庵原耕一郎、村上真史、Ahmed Nermeen

歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生に関する研究

まず、先の臨床研究において安全性が確認された、ヒト歯髄幹細胞を用いた「歯髄炎における抜髄後の歯髄再生治療」に関して、症例数を増やしてさらに有効性試験を行うための多施設臨床研究の準備を行った。すなわち、再生医療等安全性確保法に基づき、当センター細胞加工施設での歯髄幹細胞製造の認可を PMDA から得た。また、多施設からセンターGMP準拠細胞加工施設に抜去歯を輸送する条件、輸送方法、輸送可能時間などに関して作成した SOP に基づいて、再度長崎大学とシミュレーションを行った。それにより加工された細胞品質（生存率、増殖能、細胞形質など）や輸送の安全性・安定性を再度確認した。多施設臨床研究の再生医療等提供計画書を作成し、特定再生医療等委員会へ提出した。

次に、超音波導入なしで薬剤を象牙細管深部に浸透させることができるナノバブルを発生させる、歯科用の閉鎖系の発生装置を開発した。イヌ感染根管歯に対して、そのナノバブルを薬剤と併用し、細菌除去の有用性を検討した。

また、イヌにおいて歯髄幹細胞の DLA タイプが不一致で抜髄後の根管内に移植した場合、タイプが一致で移植した場合と量的および質的に同様の歯髄組織および血管・神経が再生されることが明らかとなった。また、3 か月ごと 2 回連続で移植した場合でも量的および質的な変化は全くみられなかった。よって、同種移植による歯

髄再生治療法の有効性が示唆された。

さらに、歯髄幹細胞を安定に増幅する最適な培養法（微小重力、低酸素）を検討した。

また、高齢者の組織再生を促進させる因子 RSF (regeneration stimulating factor) 候補因子 1 (CCL11 中和抗体) あるいは候補因子 2 (物質 A) をそれぞれ高齢マウスあるいはイヌの歯に適用し、歯髄再生促進に成功した。その再生促進メカニズムを検討した。

他疾患の再生医療へ歯髄幹細胞の適用を拡大すべく、サル脳梗塞モデル、ラット坐骨神経切断モデルおよびラット間質性膀胱炎モデルへ移植し、それぞれ有効性を検討した。

歯内部の歯髄を再生させる微小環境をマウス異所性歯根移植の歯髄再生モデルを用いて検討した。

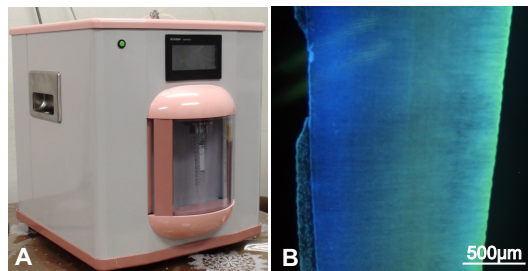


図 歯科用ナノバブル発生装置と歯への薬剤導入 A：閉鎖系歯科用ナノバブル発生装置外観 B：歯根管から象牙細管深部への薬剤の浸透（緑色）

参考文献

- Yamamoto T. *et al.*, **Cell Transplant.** 25:183-193, 2016.
Hirose Y. *et al.*, **Cell Transplant.** 25:425-436, 2016.

研究業績 (幹細胞再生医療研究部)

I. 論文発表

1. 原著

Murakami M, Hayashi Y, Iohara K, Osako Y, Hirose Y, Nakashima M.

Trophic effects and regenerative potential of mobilized mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue as alternative cell sources for pulp/dentin regeneration.

Cell Transplant, 24: 1753-1765, 2015.

Kobayashi Y, Nakashima M, Wakakuri T, Imaki J, Ito M.

Histology and immunohistochemistry of the developing juxta-oral organ in mice.

Ann Anat, 198: 49–57, 2015.

Yamamoto T, Osako Y, Ito M, Murakami M, Hayashi Y, Horibe H, Iohara K, Okui N, Hirata H, Kurita K, Nakashima M.

Trophic effects of dental pulp stem cells on schwann cells in peripheral nerve regeneration.

Cell Transplant, 25: 183-193, 2016.

Hayashi Y, Murakami M, Kawamura R, Ishizaka R, Fukuta O, Nakashima M.

CXCL14 and MCP1 are potent trophic factors associated with cell migration and angiogenesis leading to higher regenerative potential of dental pulp side population cells.

Stem Cell Res Ther, 6:111, 2015.

Hirose Y, Yamamoto T, Nakashima M, Funahashi Y, Matsukawa Y, Yamaguchi M, Kawabata S, Gotoh M.

Injection of dental pulp stem cells promotes healing of damaged bladder tissue in a rat model of chemically induced cystitis.

Cell Transplant, 25: 425-436, 2016.

Iohara K, Fujita M, Ariji Y, Yoshikawa M, Watanabe H, Takashima A, Nakashima M.

Assessment of pulp regeneration induced by stem cell therapy by Magnetic Resonance Imaging (MRI).

J Endod, 42: 397-401, 2016.

Hirose Y, Yamaguchi M, Kawabata S, Murakami M, Nakashima M, Gotoh M, Yamamoto T.

Effects of extracellular pH on dental pulp cells in vitro.

J Endod, 2016 Mar 4. doi:10.1016/j.joen.2016.01.019 (in press).

Kawamura R, Hayashi Y, Murakami H, Nakashima M

EDTA soluble chemical components and the conditioned medium from mobilized dental pulp stem cells (MDPSCs) contain inductive microenvironment, promoting cell proliferation, migration and odontoblastic differentiation.

Stem Cell Res Ther, 2016 (in press).

2. 総説

なし

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道, 等

なし

6. 特許申請、取得状況

特許出願

発明者：中島洋司、中島美砂子、庵原耕一郎、山田和正、

発明の名称：医療用患部浸透亢進液及びその利用

出願年月日：国内出願 平成 26 年 11 月 24 日

国際出願 平成 27 年 11 月 25 日

出願番号：特願 2014-237241 (国内)

PCT/JP2015/082879 (国際)

出願人：有限会社 中島工業、国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：根管充填材及び歯組織再生方法

出願年月日：国内出願 平成 20 年 3 月 12 日

国際出願 平成 21 年 3 月 12 日

分割出願(中国) 平成 27 年 12 月 23 日

出願番号：特願 2008-063391 (国内)

PCT/JP2009/055541 (W02009/113733A1) (国際)

201510981937.6 (分割 中国)

出願人：公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：島垣昌明、鈴木孝尚、渥美優介、中島美砂子

発明の名称：細胞分取培養増殖容器及び細胞分取培養増殖方法

出願年月日：国内出願 平成 27 年 12 月 26 日

出願番号：特願 2015-255511 (国内)

出願人：東レ・メディカル株式会社、ネッパジーン株式会社、

国立長寿医療研究センター（共願人として名義変更予定）

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎、渡辺秀人

発明の名称：歯科用前処理材及び歯組織再生キット

出願年月日：国内出願 平成 28 年 3 月 31 日

出願番号：特願 2016-072306 (国内)

出願人：国立長寿医療研究センター、学校法人愛知医科大学

特許取得

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：非抜歯根管充填材

出願年月日：国内出願 平成 22 年 9 月 10 日

出願番号：特願 2010-202663 (国内)

特許取得：平成 27 年 5 月 22 日

特許証：特許第 5748194 号

権利者：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、中村洋

発明の名称：薬剤、歯科材料、及びスクリーニング方法

出願年月日：国内出願 平成 20 年 4 月 7 日

国際出願 平成 22 年 4 月 6 日

欧州移行 平成 22 年 11 月 5 日

出願番号：特願 2008-099814
PCT /JP2009/057410 (W02009/125859) (国際)
09730839.9 (欧州)
特許取得：平成 27 年 7 月 8 日 (欧州)
特許証：特許第 2286829 号
権利者：国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子、杉山昌彦
発明の名称：脳梗塞治療材及び脳組織再生方法
出願年月日：国内出願 平成 21 年 8 月 21 日
出願番号：特願 2010-525733
特許取得：平成 27 年 8 月 21 日 (国内)
特許証：特許第 5793724 号
権利者：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎
発明の名称：間葉系幹細胞を含んでなる根管充填材及びこれを用いた歯組織再生方法
出願年月日：国内出願 平成 23 年 2 月 28 日 (国内)
中国移行 平成 25 年 8 月 23 日 (中国)
出願番号：特願 2011-042862
09730839.9 (中国)
特許取得：平成 27 年 10 月 14 日 (中国)
特許証：特許第 ZL20128001806.8 号
権利者：国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎、山田和正、島垣昌明、長部真博
発明の名称：膜分取培養器、膜分取培養キット、
およびこれを用いた幹細胞分取方法、ならびに分離膜
出願年月日：国内出願 平成 23 年 3 月 30 日 (国内)
シンガポール移行 平成 25 年 9 月 30 日
出願番号：特願 2011-075861
PCT/JP2012/058637 (W02012/133803 A1) (国際)
201307347-3 シンガポール
特許取得日：平成 27 年 12 月 24 日
特許証：194029
権利者：国立長寿医療研究センター、東レ株式会社

発明者：中島美砂子、立花克郎
名称：歯科用超音波薬剤導入システム及び歯科用超音波薬剤導入方法
出願年月日：国内出願 平成 21 年 12 月 16 日
国際出願 平成 22 年 12 月 16 日

中国移行 平成 24 年 6 月 14 日
出願番号： 特願 2009-285068 特願 2010-280905 特開 2011-143242
PCT/JP2010/007315 (W02011/074268A1) (国際)
201080056859.4 (中国)
特許取得日：平成 28 年 2 月 17 日 (中国)
特許証：特許第 ZL201080056859.4 号
権利者：国立長寿医療研究センター、学校法人福岡大学

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Nakashima M

Dental pulp stem cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration clinical trial.

5th Research Week International Symposium of Oral Medicine College of Oral Medicine, May 16, 2015, Taipei.

Nakashima M

Dental pulp stem cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration: Phase 1 clinical trial. Proceedings of International Conference on Clinical Trials, July 27, 2015, Orlando.

中島美砂子

歯の延命化を目指した歯髄幹細胞自家移植による歯髄再生治療法の臨床研究.
第 33 回日本骨代謝学会学術集会, 2015 年 7 月 24 日, 東京.

中島美砂子

歯の延命化による健康長寿を目指した歯髄・象牙質再生治療法の現状と展望. シンポジウム「健康長寿と再生医療」

日本学術会議歯学委員会主催, 日本歯科医学会・日本歯学系学会協議会共催,
2015 年 12 月 13 日, 東京.

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

藤田将典、庵原耕一郎、堀場直樹、中田和彦、中島美砂子

感染根管における新規ナノバブルを用いた根管内無菌化と歯髄再生.
第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会, 2015 年 6 月 25 日, 福岡.

庵原耕一郎、中島美砂子

MRI による抜髄後歯髄再生治療法の有効性解析.

第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会, 2015 年 6 月 25 日, 福岡.

庵原耕一郎、藤田将典、中島美砂子

歯髄幹細胞の同種移植による歯髄再生治療法の開発.

第 13 回日本再生歯科医学会学術大会総会, 2015 年 8 月 29 日, 新潟.

中山英典、大桑雄太、栗田賢一、中島美砂子

ヒト若齢根未完成歯由来膜分取歯髄幹細胞は未分取に比べより有用な細胞源となり得る.

第 60 回日本口腔外科学会総会学術大会, 2015 年 10 月 16 日, 名古屋.

庵原耕一郎、藤田将典、村上真史、中島美砂子

同種移植による抜髄後歯髄再生治療法の開発.

第 143 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2015 年 11 月 13 日, 東京.

庵原耕一郎、中島美砂子

イヌ抜髄モデルを用いた同種移植による抜髄後再生治療法の開発.

第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪.

Ahmed N., Nakashima M., Murakami M.

Therapeutic potential of dental pulp stem cell secretome for Alzheimer's disease treatment.

第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪.

林勇輝、福田理、中島美砂子

高齢マウスにおける抗 CCL 1 1 抗体の持続投与による歯髄再生量回復メカニズムの検討.

第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪.

4. その他、セミナー等

中島美砂子

歯髄・象牙質再生医療の現状と未来

第 2 回骨の研究会, 2015 年 10 月 3 日, 東京.

中島美砂子

ここまで来た歯髄再生治療.

日本自家歯牙移植・外傷歯学研究会 CE セミナーOB 会合同研修会, 2015 年 6 月 28 日, 名古屋.

中島美砂子

歯の延命化による健康長寿を目指した歯髄・象牙質再生治療法の現状と展望. 東京医科歯科大学院特別講義, 東京医科歯科大学, 2016 年 2 月 4 日, 東京.

中島美砂子

超高齢化社会に向けた歯髄・象牙質再生医療の現状と未来.

大阪市東歯科医師会学術講演会 一般社団法人大阪市東歯科医師会主催, 2016 年 2 月 27 日, 東京.

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

なし

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

中島美砂子 (代表) 230 万円 (総額 299 万円)

科学研究費補助金 基盤研究(B)

DNA 損傷の形態学的品質評価法を用いた歯髄幹細胞の最適培養法の開発

中島美砂子 (分担) 20 万円

科学研究費補助金 基盤研究(C)

歯髄幹細胞を用いた新しい末梢神経麻痺の根本治療法の開発

中島美砂子 (分担) 30 万円

科学研究費補助金 基盤研究(C)

歯髄・骨髄・脂肪幹細胞培養上清の再生能比較による細胞遊走因子の同定

4. 財団、その他

中島美砂子（代表） 1,461 万円（総額 1,861 万円）

長寿医療研究開発費

歯髄再生治療をモデルとした高齢者の再生治療を促進する因子(RSF)の開発

中島美砂子（分担） 278 万円

サポイン 中小企業経営支援等対策費補助金

幹細胞を簡便、安全に分取し、高機能化増幅する革新的器具の開発