

機関番号：83903

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390504

研究課題名(和文) 歯髄マーカーを用いた他組織幹細胞から歯髄幹細胞への形質転換の証明

研究課題名(英文) Demonstration of transdifferentiation of other tissue stem cells into dental pulp stem cells by a pulp biomarker

研究代表者

中島 美砂子 (MISAKO NAKASHIMA)

独立行政法人国立長寿医療研究センター・口腔疾患研究部・室長

研究者番号：20207773

研究成果の概要(和文)：本研究は、歯髄幹細胞および他組織の幹細胞の差次的プロテオミクスによる網羅的な蛋白質解析により、歯髄幹細胞に特異的なマーカーを得ることを目的とする。これにより、他の組織幹細胞から歯髄幹細胞を誘導し、安全で侵襲性なく象牙質・歯髄再生のための幹細胞源を得る新しい方法を確立する。まず、同意を得たヒト抜去歯髄組織から歯髄細胞を分散させ、フローサイトメトリーにてCD105⁺細胞を分取した。また、市販のヒト骨髄細胞およびヒト羊膜間葉系幹細胞から、同様に骨髄CD105⁺細胞および羊膜CD105⁺細胞を分取した。その3種の細胞からそれぞれ蛋白質を溶出し、二次元電気泳動し、銀染色後、パターンを比較し、歯髄幹細胞に特異的なスポット9個を切り出し、還元アルキル化を行った後、トリプシン消化を行った。得られたペプチドはnano-LC/MS/MSを用いてショットガン法により解析した。得られた結果はヒトデータベースを用いて歯髄幹細胞に特異的なマーカーの検索を行ない、免疫抑制タンパク群のひとつであるFK506 binding proteinならびに中間径フィラメントに類似するunnamed protein productを検出した。後者は遺伝子データベースによりVimentinであることが判明した。市販のヒト全身主要18組織および胎児由来2組織における発現と比較して、歯髄組織において最も高いmRNA発現がみられた。ついで、正常歯髄組織におけるVimentinの発現を免疫染色により検討したところ、間質の歯髄細胞に強い発現がみられたが、歯根膜組織ではその発現が弱かった。よって、イヌ抜髄後歯髄幹細胞を根管内に移植した後の再生組織においてVimentinを免疫染色で検討したところ、いずれの場合もほぼ同様の発現パターンがみられた。よって、Vimentinの歯髄マーカーとしての有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed at identification of a specific biomarker for dental pulp stem cells by systemic protein analysis by differential proteomic expression profiles of dental pulp stem cells and other tissue stem cells. As a result, a new method should be established to induce the dental pulp stem cells from other stem cells and obtain a new cell source with safety and no invasive method. First of all, dental pulp cells were isolated from the extracted tooth pulp after getting the patient's agreement, and CD105⁺ cells were isolated by flow cytometry. Moreover, bone marrow CD105⁺ cells and amnion CD105⁺ cells were isolated from a human bone marrow cells and amnion mesenchymal stem cells. After the protein was extracted from these three types of cells respectively, patterns were compared after silver staining in the two-dimensional electrophoretic gels. Nine protein spots were detected only in pulp CD105⁺ cells. The proteins were identified by nano liquid chromatography-mass spectrometry (nano-LC/MS) and database searching. They were excised, and the reduction alkylation and the tryptic digestion were done. FK506 binding protein and unnamed protein product of the intermediate filament, were detected. One of the proteins identified with high confidence in pulp CD105⁺ cells was vimentin. Expression of vimentin mRNA was highest in pulp tissue compared with other variety of tissues, 18 human main tissues and 2 embryonic tissues. Next, interstitial pulp cells were strongly immunostained and the periodontal ligament cells were weakly immunostained with vimentin. All the regenerated tissues after transplantation of the dental pulp stem cells into root canal were similarly immunostained with vimentin. Thus, vimentin can serve as a useful marker for pulp regeneration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	10,800,000	3,240,000	14,040,000
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
総計	15,000,000	4,500,000	19,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：再生歯学、歯髄幹細胞、プロテオーム、歯髄再生

1. 研究開始当初の背景

私共は以前より、象牙質・歯髄を再生する新しい齶蝕・歯髄治療法の開発を進めてきた。その中で、歯髄組織から歯髄幹細胞・前駆細胞を分取し、骨形成因子 **Bone morphogenetic protein 2 (BMP2)** を添加して三次元培養すると象牙芽細胞へ分化することを明らかにした¹⁾。さらに、イヌの生活歯髄切断面上にこの細胞を自家移植すると象牙質が再生された¹⁾。しかしながら、このような細胞導入法による齶蝕治療を実際臨床応用するためには、歯髄幹細胞を安全に、生体に侵襲を与えず、しかもできるだけ安価に入手する方法が問題となる。患者自身の不要な智歯あるいは矯正便宜抜去歯は供給源に限られ、そこから得られる歯髄幹細胞もごく少量である。幹細胞の形質を維持したまま安全に増幅する方法もいまだ明らかではない。そこで、私どもは免疫原性の低い、容易に得られる他の組織から歯髄幹細胞を誘導することを考えた。例えば羊膜は、帝王切開時に不要物として廃棄され、大量の幹細胞が得られ、抗原性が非常に少ないので同種性移植が可能であるという利点がある。歯髄幹細胞と同様に、羊膜幹細胞は *in vitro* で骨芽細胞、神経細胞に誘導可能であることが知られている。歯髄幹細胞は *in vitro* において脱灰象牙質基質上で三次元培養を行うと、脱灰象牙質基質に接した部分は象牙芽細胞に分化し、同時に血管様構造物を含む歯髄様組織が形成される。この *in vitro* モデル系を用いて、羊膜幹細胞にある遺伝子を導入した後三次元培養すると歯髄様組織の形成がみられた。しかしながら、歯髄組織であることを証明するための分子マーカーはいまだ見つかっていない。私どもはヒトの歯髄、歯根膜および歯肉組織の間葉系細胞から得られた **RNA** を用いてマイクロアレイ解析を行い、その差次的発現により歯髄特異的マーカーを得ることを試みた。その結果、数種類の候補が上がったが、各種組織の **mRNA** 発現を比較してみると、歯髄にのみ特異的に発現する遺伝子は見つけられなかった。

近年、質量分析計の技術革新および蛋白質・核酸配列データベースの充実により、蛋白質を大規模解析し、蛋白質の機能や細胞の機能情報ネットワークを明らかにし、ゲノム情報に機能情報を付加する「プロテオミクス」研究が急速に進展しつつある。この解析法を利用して、海馬に存在する神経細胞に特異的な形質膜の蛋白質候補が明らかにされている²⁾。また、間葉系幹細胞の特徴化も進められている。一方、血管新生能をもつ幹細胞は脂肪組織、大動脈、筋肉からも歯髄と同様に分取できたが、マイクロアレイ分析ではその遺伝子発現プロファイルにかなりの差がみられたことから、各組織由来の幹細胞がそれぞれ組織特異的な表現型も有することが示唆された。よって、各組織由来の幹細胞の形質膜蛋白質を差次的プロテオミクスにより網羅的に解析して歯髄幹細胞に特異的なマーカーを得る着想に至った。

- 1) Iohara K., Zheng L., Ito M., Tomokiyo A., Matsushita K. and Nakashima M.: The side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis and neurogenesis. *Stem Cells* 11, 2006.
- 2) Chen P., Li X., Sun Y., Liu Z., Cao R., Quanyuan H., Wang M., Xiong J., Xie J., Wang X. and Liang S.: Proteomic analysis of rat hippocampal plasma membrane: characterization of potential neuronal-specific plasma membrane proteins. *J Neurochem.* 98, 1126-1140, 2006.

2. 研究の目的

本研究は、各組織由来の幹細胞の形質膜蛋白質を差次的プロテオミクスにより網羅的に解析して歯髄幹細胞に特異的なマーカーを得ることを目的とする。ことにより、他の組織幹細胞から歯髄幹細胞を誘導し、安全で侵襲性なく象牙質・歯髄再生のための幹細胞源を得る新しい方法を確立する。

3. 研究の方法

(1) 歯髄幹細胞に特異的な蛋白質プロテオーム解析

① ヒト各組織由来 CD105⁺細胞分取
同意を得た後に智歯より即座に歯髄を摘出し、37°Cで1時間酵素消化後歯髄細胞を分離し、IGF1、EGF および 10%FBS 含有の EBM2 (Lonza)中で培養した。3代継代後、CD105 抗体によるフローサイトメトリーによる細胞分取を行った。同様に、市販のヒト骨髓細胞 (ヒューマンサイエンス財団) およびヒト羊膜間葉系幹細胞 (生物資源応用研究所) から、フローサイトメトリーにより骨髓 CD105⁺細胞および羊膜 CD105⁺細胞を分取した。

② 幹細胞蛋白質の分離・濃縮

それぞれ継代 2-3 代後の 70-80%コンフルエント状態で、lysis buffer (6 M urea, 1.97 M thiourea, 2% (w/v) CHAPS, 64.8 mM DTT, 2% (v/v) Pharyalysate)に回収し、ホモジナイズ後、超音波破碎した。15,000 rpm で 15 分、4°C で遠心し、上清を回収した。

③ 差次的二次元電気泳動および in-gel digestion

②のサンプルを二次元電気泳動し、Flamingo Fluorescent Gel Stain で染色後、パターンを Progenesis (Nonlinear Dynamics)でスキャンし比較した。歯髄に特異的なスポットを切り出し、還元アルキル化を行った後、トリプシン消化を行った。得られた消化物は Zip-Tip mC18 で脱塩および濃縮後、0.1% TFA,75%ACN で溶出し、質量分析に用いた。

④ 質量分析

得られたペプチドをナノ高速液体クロマトグラフィタンデム質量分析装置 (nano LC-MS/MS)を用いてショットガン法により解析した。そして、その中に含まれるペプチドの質量と内部アミノ酸情報からヒトデータベースを用いて蛋白質を同定した。

(2) 歯髄に特異的な蛋白質の同定

① 歯髄幹細胞における遺伝子・蛋白質発現

(1)で得られた歯髄に特異的な蛋白質候補について、ヒト用 real-time RT-PCR 用プライマーを設計し、ヒト歯髄、骨髓、羊膜 CD105⁺細胞から total RNA を分離し、歯髄 CD105⁺細胞に特異的に発現することを確認した。

② ヒト全身組織における mRNA 発現

ヒト胎児および成体各組織からの total RNA (Human Total RNA MAster Panel II) (Clontech Inc.)を用いて、①の特異的な蛋白質候補の primer で Real-time RT-PCR を行い、歯髄組織にお

ける mRNA 発現の強さを比較した。

歯髄組織における局在性

抗体を用いて、ヒト歯髄組織の免疫染色を行い、蛋白質の局在性を観察した。

以上により、歯髄に強く発現する蛋白質を同定した。

(3) イヌ抜髄後根管内へ、歯髄幹細胞移植後の再生組織の解析

① イヌ再生組織の免疫組織学的証明

イヌ同一個体より歯髄細胞を分離し、さらに Hoechst33342 ラベル後、CD31 でさらにラベルして、フローサイトメトリーにより CD31⁻ side population (SP)細胞を分取し、形質を維持した状態で培養した。イヌ抜髄後の根管内に、CD31⁻ SP 細胞を自家移植して、1ヶ月後に標本を抜歯し、パラフィン標本を作製し、HE ならびに抗体免疫染色で、再生組織を比較検討した。

② イヌ再生組織の分子生物学的証明

real-time RT-PCR により、歯髄幹細胞移植後の1ヶ月サンプルを正常歯髄と mRNA 発現の比較をした。

4. 研究成果

(1) 歯髄幹細胞に特異的な蛋白質プロテオーム解析

ヒト歯髄、骨髓、羊膜 CD105⁺細胞は 10 代でも 95%、CD105 陽性の形質が維持されていた。3 種の幹細胞からそれぞれ蛋白質を溶出し、二次元電気泳動し、染色後、パターンを比較したところ、3つの細胞間で類似がみられた。それぞれ、400-500 の蛋白質のスポットがみられた。274 個のスポットが 3つの細胞間で共有に見られた。歯髄幹細胞に特異的なスポットは 9 個見られ (表 1)、このスポットを切り出し、プロテオーム解析した。そのうち、免疫抑制タンパク群のひとつである FK506 binding protein ならびに中間径フィラメントに類似する unnamed protein product を検出した。後者は遺伝子データベースにより Vimentin であることが判明した。

表1 歯髄特異的と考えられたタンパク質の同定

Spot ID	Protein name	Accession Number (Gi)	Coverage (%)
①	Unnamed protein product	21757045	15.2
②	Actin	7245526	24.5
③	FK506 binding protein	4758384	28.4
④	data not available		
⑤	Keratin 1, type 2	7428712	14.6
⑥	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal	547754	28.7
⑦	data not available		
⑧	data not available		
⑨	data not available		

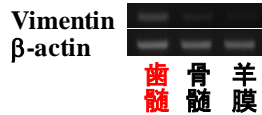


図1 ヒト CD105⁺細胞における Vimentin mRNA 発現

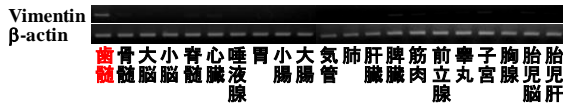


図2 ヒト全身各組織における Vimentin mRNA 発現比較

(2) 歯髄に特異的な蛋白質の同定
Vimentin が強く歯髄に発現していることを確認するために、歯髄、骨髄、羊膜 CD105⁺ 細胞およびヒト歯髄を含む各種組織における遺伝子および蛋白質発現を検討した。その結果、二次元電気泳動のゲル像と同様に、vimentin mRNA は歯髄 CD105⁺ 細胞において、骨髄、羊膜 CD105⁺ 細胞よりも強い発現がみられた(図1)。また、ヒト全身主要 18 組織および胎児由来 2 組織における発現と比較して、歯髄組織において最も高い mRNA 発現がみられた(図2)。

ついで、ヒト正常歯髄組織における Vimentin の発現を免疫染色により検討したところ、間質の歯髄細胞および血管内皮細胞に強い発現がみられた (図3 A, B)。

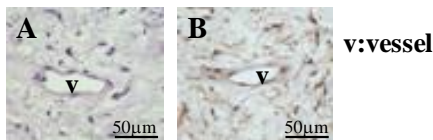


図3 ヒト歯髄組織における Vimentin 発現

(3) イヌ抜髄後根管へ、歯髄幹細胞移植後の再生組織の解析

ついで、イヌ抜髄後歯髄幹細胞を根管内に移植した後の再生組織において Vimentin を免疫染色で検討した。歯髄幹細胞を移植した場合でも Vimentin 陽性細胞の局在性、密度、分布は正常歯髄とほぼ一致していた。歯根膜における発現は弱かった(図4)。

また、正常に歯髄と比べて、歯髄幹細胞を移植した再生歯髄組織では、ほぼ同等の vimentin mRNA の発現量がみられた。(図5) 以上のことから、vimentin の歯髄マーカーとしての有用性が示唆された。

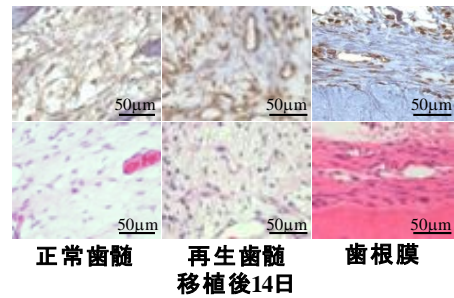


図4 イヌ再生歯髄組織の Vimentin の発現

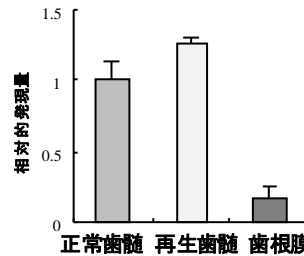


図5 Vimentin mRNA 発現比較

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11件)

1. Nakashima M. and Iohara K.: Renovation of dental pulp by stem cells. Adv. Dent Res. 査読有、23, 2011. 313-319
2. Sugiyama M., Iohara K., Wakita H., Hattori H., Ueda M., Matsushita K. and Nakashima M.: Dental Pulp-Derived CD31(-)/CD146(-) Side Population Stem/Progenitor Cells Enhance Recovery of Focal Cerebral Ischemia in Rats. Tissue Eng. Part A. 査読有、17(9-10). 2011. 1303-1311
3. Iohara K., Imabayashi K., Ishizaka R., Watanabe A., Nabekura J., Ito M., Matsushita K., Nakamura H. and Nakashima M.: Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105⁺ stem cells with SDF-1. Tissue Eng. Part A. 査読有、Mar. 18. 2011. in press
4. 中島美砂子、庵原耕一郎: 歯の健康維持・延命化をめざした歯科再生医療による新しい蝕・歯髄炎治療法の開発. 小児歯科学雑誌. 査読無、48(6). 2010. 653-658
5. 中島美砂子、庵原耕一郎、杉山昌彦: 歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生. 日本歯科評論. 査読無、70(2). 2010. 135-138

6. Iohara K., Zheng L., Ito M., Ishizaka R., Nakamura H., Into T., Matsushita K. and Nakashima M.: Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31⁺/CD146⁻ side population cells from a canine tooth. Regen Med. 査読有、4(3). 2009. 377-385
 7. Zheng L., Amano K., Iohara K., Ito M., Imabayashi K., Into T., Matsushita K., Nakamura H. and Nakashima M.: Matrix metalloproteinase-3 accelerates wound healing following dental pulp injury. Amer. J. Pathol. 査読有、175(5). 2009. 1905-1914
 8. Nakashima M., Iohara K., and Sugiyama M.: Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. Cytokine & Growth Factor Reviews. 査読有、20 (5-6) 2009. 435-440
 9. Iohara K., Zheng L., Wake H., Ito M., Nabekura J., Wakita H., Nakamura H., Into T., Matsushita K. and Nakashima M.: A novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp. Stem Cells. 査読有、26. 2008. 2408-2418
 10. Into T., Inomata M., Nakashima M., Shibata K., Häcker H. and Matsushita K.: Regulation of MyD88-dependent signaling events by S-nitrosylation retards Toll-like receptor signal transduction and initiation of acute-phase immune responses. Mol Cell Biol. 査読有、28. 2008. 1338-1347
 11. 天野 一晴、中島 美砂子、鄭力、庵原 耕一郎、松井 寛敬、山崎 雅弘、松下 健二、中村 洋.: ラット歯髄創傷治癒過程における MMP-3 の機能解析. 日本歯科保存学雑誌. 査読有、51. 2008. 602-613
- [学会発表] (計 26 件)
1. 今林貴代美、渡邊淳、庵原耕一郎、石坂亮、中島美砂子. 「CD105 陽性幹細胞を用いた歯髄特異的タンパク質の検索」第 10 回日本歯科再生医療学会総会、2011 年 3 月 2 日、東京
 2. 庵原耕一郎、石坂亮、杉山昌彦、中島美砂子. 「ブタ歯髄・脂肪 CD31-SP 細胞の歯髄再生能の比較」第 10 回日本歯科再生医療学会総会、2011 年 3 月 2 日、東京
 3. 中島美砂子. 「歯髄幹細胞を用いた歯髄再生」第 10 回日本歯科再生医療学会総会、2011 年 3 月 1 日、東京
 4. Nakashima M.: Total Pulp egeneration by Transplantation of Dental Pulp Stem Cells. 3rd International Workshop on Bio Dental Education & Research. Jan. 29, 2011. Hiroshima.
 5. 中島美砂子、認定研修会 「歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生」第 133 回日本歯科保存学会 2010 年度秋季学術大会、2010 年 10 月 28 日、岐阜
 6. Nakashima M.: Total regeneration of dental pulp by transplantation of dental pulp stem cells. 8th IFEA-WORLD CONGRESS OF ENDODONTICS. Oct. 7, 2010. Athens, Greece.
 7. Nakashima M. and Iohara K.: Pulp Stem Cells and Pulp Regeneration. Tissue Injury and Pulp Regeneration. July 19, 2010. Geneva, Switzerland.
 8. 中島美砂子. 「歯髄幹細胞を用いた象牙質・歯髄再生による新しい蝕・歯髄炎治療法の開発」第 64 回日本口腔科学会学術集会、2010 年 6 月 24 日、札幌
 9. 石坂亮、庵原耕一郎、福田理、松下健二、中村洋、中島美砂子. 「ブタ歯髄・骨髄・脂肪 CD31-SP 細胞の血管新生能の比較」第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会、2010 年 6 月 5 日、熊本
 10. 庵原耕一郎、石坂亮、今林貴代美、江場久哲、松下健二、中村洋、中島美砂子. 「歯髄 CD105 陽性細胞を用いた抜髄後歯髄再生法の確立」第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会、2010 年 6 月 5 日、熊本
 11. 今林貴代美、庵原耕一郎、石坂亮、江場久哲、松下健二、中村洋、中島美砂子. 「歯髄幹細胞を用いた抜髄後歯髄再生のタンパク化学的解析による証明」第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会、2010 年 6 月 4 日、熊本
 12. 中島美砂子. 教育講演 「歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生 新しい蝕・歯髄炎治療の実用化を目指して」第 48 回日本小児歯科学会大会、2010 年 5 月 20 日、名古屋

13. 杉山昌彦、庵原耕一郎、脇田英明、服部宇、上田実、松下健二、中島美砂子.「歯髄幹細胞を用いた脳虚血疾患治療の可能性」第9回日本再生医療学会総会、2010年3月19日、広島
14. 中島美砂子.「歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生」第6回長崎障害者支援再生医療研究会、2010年2月23日、長崎
15. 中島美砂子.「歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生」愛知学院大学口腔先端科学研究所講演会、2010年2月19日、愛知
16. 中島美砂子.「歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生」口腔 QOL 連続シンポジウム in Tokushima 2009-2010、2010年1月22日、徳島
17. 中島美砂子.「歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生」日本歯科保存学会春季大会、2009年6月12日、北海道
18. Amano K., Nakashima M., Zheng L., Iohara K., Matsui H., Yamasaki M., Matsushita K. and Nakamura H.: Enhanced wound healing by matrix metalloproteinase-3 after dental pulp amputation. Japanese Association for Dental Research. Nov. 30, 2008. Nagoya
19. 庵原 耕一郎、杉山 昌彦、中村さやか、山田 陽一、上田 実、松下 健二、中村 洋、中島 美砂子.「乳歯由来歯髄細胞は血管新生・神経再生を促進する」第129回日本歯科保存学会、平成20年11月6日、富山
20. 天野 一晴、中島 美砂子、中田 和彦、山崎 雅弘、中村 洋.「MMP3は血管新生および修復象牙質形成を促進する」第129回日本歯科保存学会、平成20年11月6日、富山
21. 杉山 昌彦、服部 宇、上田 実、中島 美砂子.「歯髄由来 CD31⁺ SP 細胞の神経再生に対する有効性の検討」第53回(社)日本口腔外科学会総会、平成20年10月20日、徳島
22. 中島 美砂子、庵原 耕一郎.「歯髄幹細胞を用いた血管・神経の再生医療」第53回(社)日本口腔外科学会総会、平成20年10月20日、徳島
23. Nakashima M. and Iohara K.: Pulp Regeneration. 7th International Conference on Bone Morphogenetic Proteins. July. 12, 2008. Lake Tahoe, California
24. 杉山 昌彦、庵原 耕一郎、脇田 英明、服部 宇、上田 実、中島 美砂子.「歯髄 CD31 陰性 SP 細胞の歯髄および脳組織における神経・血管再生に対する効果の検討」第128回日本歯科保存学会、平成20年6月6日、新潟
25. 天野 一晴、中島 美砂子、中田 和彦、山崎 雅弘、中村 洋.「MMP3はラット歯髄創傷時において血管新生を促進する」第29回日本歯内療法学会学術大会、平成20年5月24日、千葉
26. 中島 美砂子、庵原 耕一郎.「歯髄幹細胞を用いた象牙質・歯髄再生—歯の延命化を目指して」日本歯科放射線学会第49回学術大会、平成20年5月17日、名古屋
- [図書] (計2件)
1. 中島美砂子、長寿科学振興財団、高齢者の口腔機能とケア 「高齢者の歯の病態と歯再生医療」2010、7ページ
2. 中島美砂子、クインテッセンス出版株式会社、シリーズ MIT に基づく歯科臨床 治療の歯内療法 「歯髄再生療法の現状と将来」2010、9ページ
- [産業財産権]
出願状況 (計5件)
1. 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
発明者: 中島美砂子、庵原耕一郎
権利者: 国立長寿医療研究センター
種類: 特願
番号: 2011-042862
出願年月日: 2011年2月28日
国内外の別: 国内
2. 名称: 薬剤、歯科材料、及びスクリーニング方法
発明者: 中島美砂子
権利者: ヒューマンサイエンス財団
種類: PCT
番号: PCT JP2009-057410
出願年月日: 2009年4月6日
国内外の別: 外国
2010年10月6日:
12/936474 (米国移行番号)
09730839.9 (欧州移行番号)
200980112243.1 (中国移行番号)

3. 名称：脳梗塞治療材及び脳組織再生方法
発明者：中島美砂子、杉山昌彦
権利者：ヒューマンサイエンス財団
種類：PCT
番号：PCT JP2009-065024
(WO2010/021412)
取得年月日：2009年8月21日
国内外の別：外国
4. 名称：歯髄の損傷又は部分喪失時の歯髄及び/又は象牙質形成促進のための薬剤及びその利用
発明者：中島美砂子、中村洋
権利者：愛知学院大学、国立長寿医療センター
種類：特願
番号：2008-099814
出願年月日 2008年4月7日
国内外の別：国内
5. 名称：根管充填材及び歯組織再生方法
発明者：中島美砂子、庵原耕一郎
権利者：ヒューマンサイエンス財団
種類：PCT
出願年月日：2009年3月12日
番号：PCT JP2009-055541
(WO2009/113733)
国内外の種別：外国
2010年9月13日：
12/922097（米国移行番号）
09718864.3（欧州移行番号）
200980108613.4（中国移行番号）

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
中島 美砂子 (NAKASHIMA MISAKO)
国立長寿医療研究センター
口腔疾患研究部・室長
研究者番号：20207773
- (2) 研究分担者
庵原 耕一郎 (IOHARA KOUICHIRO)
国立長寿医療研究センター
口腔疾患研究部・研究員
研究者番号：60435865
渡邊 淳 (WATANABE ATSUSHI)
国立長寿医療研究センター
共同利用推進室・室長
研究者番号：90321843
中村 洋 (NAKAMURA HIROSHI)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号：40064878