

長寿医療研究開発費 2020年度 総括研究報告（総合報告）

高齢者における口腔内洗浄度向上を目指したウイルスおよび細菌除去効果を有する 含嗽剤の開発および臨床研究 —ナノバブル含嗽剤への応用—（30-23）

主任研究者 庵原 耕一郎 国立長寿医療研究センター 幹細胞再生医療研究部（室長）

研究要旨

これまでの長寿医療研究開発費による研究により、ナノバブルと市販の含嗽剤を併用することで、バイオフィルムの除去・除菌効果が市販の含嗽剤と比べて大幅に向上することを明らかにした。よって本研究を継続して、まず、ウイルスや肺炎球菌に対するナノバブルの基礎的研究を行う。また、口腔ケアのための最適な含嗽剤の使用条件および非臨床研究を行い、さらに高齢者施設においてナノバブル含嗽剤の細菌除去効果に対する臨床研究を行う。具体的には、ウイルスに対してはまず *in vitro* において薬剤含有ナノバブル培養液もしくは薬剤含有培養液にノロウイルスを感染させ、クリスタルバイオレット染色にて効果を比較検討し、適切な薬剤、濃度を決定する。これにより、高齢者におけるウイルス感染症の予防に寄与できると考えられる。また、肺炎球菌においてもまず、*in vitro* においてバイオフィルム除去効果を検討する。臨床研究については、将来、高齢者施設において、自力での口腔ケアがやや難しい患者においてナノバブル含有含嗽剤の有効性を、前後の歯面、舌、頬部口腔粘膜の細菌数の減少により検討するため、まず健康な人において、計測方法を確立させる。ナノバブルの含嗽における使用方法を確立させれば、高齢者の誤嚥性肺炎の発症リスクを下げることが期待できる。また、う蝕・歯周疾患を減少させ、口腔の健康状態を維持させ、オーラル・フレイルの発症を予防できると考えられる。平成30年度は最適なナノバブルおよびナノバブルに添加する薬剤の決定、およびナノバブルのウイルスへの効果、ナノバブル含有 EDTA の脱灰効果、ナノバブルによるスミヤー層除去効果、ナノバブルの難治性根尖性歯周炎での効果を検討した。平成31年度は歯肉へのナノバブルの浸透促進効果や抗生剤含有ナノバブル含嗽剤の有用性を検討し、また、イヌを用いた実際の臨床研究と同様に行うと想定されるナノバブルの口腔内清掃促進効果の検討を行った。この結果、塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルの歯肉への浸透が明らかにみられた。これより、新型コロナウイルス（SARS-CoV2）を含む、粘膜に入り込んだウイルスに対してもナノバブルの薬剤浸透促進効果による薬剤の影響を期待することが出来ると考えられた。イヌを用いた実際の臨床研究と同様に行うと想定される口腔内清掃を行ったところ、ナノバブル含有含嗽液は細菌数の減少傾向

がみられた。令和2年度は ナノバブルによる含嗽の臨床研究を行うにあたって、治験・臨床研究推進部に臨床研究相談をおこなった。そこでナノバブルを医薬品もしくは医療機器として登録が必要であること、特定臨床研究として認定臨床研究委員会に申請が必要であること、ナノバブルの品質を明らかにしておく必要があること、出口戦略として有力な企業との連携が必要との助言をえた。

主任研究者

庵原 耕一郎 国立長寿医療研究センター 幹細胞再生医療研究部 (室長)

分担研究者

松下 健二 国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部 (部長) (2018, 2019 年度のみ)

中西 章 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部 遺伝子治療研究室 (室長) (2018 年度のみ)

研究期間 2018 年 4 月 1 日～2021 年 3 月 31 日

A. 研究目的

これまでの長寿医療研究開発費による研究により、ナノバブルと市販の含嗽剤を併用することで、バイオフィルムの除去・除菌効果が市販の含嗽剤と比べて大幅に向上することを明らかにした。よって本研究を継続して、まず、ウイルスや肺炎球菌に対するナノバブルの基礎的研究を行う。また、口腔ケアのための最適な含嗽剤の使用条件および非臨床研究を行い、さらに高齢者施設においてナノバブル含嗽剤の細菌除去効果に対する臨床研究を行う。具体的には、ウイルスに対してはまず *in vitro* において薬剤含有ナノバブル培養液もしくは薬剤含有培養液にノロウイルスを感染させ、クリスタルバイオレット染色にて効果を比較検討し、適切な薬剤、濃度を決定する。これにより、高齢者におけるウイルス感染症の予防に寄与できると考えられる。また、肺炎球菌においてもまず、*in vitro* においてバイオフィルム除去効果を検討する。臨床研究については、将来、高齢者施設において、自力での口腔ケアがやや難しい患者においてナノバブル含有含嗽剤の有効性を、前後の歯面、舌、頬部口腔粘膜の細菌数の減少により検討するため、まず健康な人において、計測方法を確立させる。ナノバブルの含嗽における使用方法を確立させれば、高齢者の誤嚥性肺炎の発症リスクを下げる事が期待できる。また、う蝕・歯周疾患を減少させ、口腔の健康状態を維持さ

せ、オーラル・フレイルの発症を予防できると考えられる。平成30年度は最適なナノバブルおよびナノバブルに添加する薬剤の決定、およびナノバブルのウィルスへの効果、ナノバブル含有 EDTA の脱灰効果、ナノバブルによるスミヤーク層除去効果、ナノバブルの難治性根尖性歯周炎での効果を検討した。平成31年度は歯肉へのナノバブルの浸透促進効果や抗生剤含有ナノバブル含嗽剤の有用性を検討し、また、イヌを用いた実際の臨床研究と同様に行うと想定されるナノバブルの口腔内清掃促進効果の検討を行った。令和2年度は、ナノバブルによる含嗽の臨床研究を行うにあたって、治験・臨床研究推進部に臨床研究相談をおこなった。提言として、①薬剤とナノバブルを混合して販売する場合医薬品としての臨床研究を行う必要があること、②ナノバブル単体として含嗽する場合においても医薬品もしくは医療機器として登録が必要である可能性が高いこと、③ナノバブル含有含嗽液を薬剤含有のものとして製品化を目指す場合、臨床研究の申請は開発研究として扱うため、特定臨床研究として認定臨床研究委員会に提出する必要があること、④臨床研究を行う前にナノバブルの効果の維持期間などの品質について明らかにしておく必要があること等のご助言をいただいた。

B. 研究方法

- 1) ナノバブルの種類（ナノバブル（ナック社）、プラスナノバブル（O 研究所）、ナノバブル（N 社）、酸素ナノバブル（R 研究所））による象牙細管への薬剤浸透の比較検討をブタ抜去歯にて UV 照射下の実態顕微鏡にて観察することで行った。（庵原）。
- 2) う蝕モデルとして、*Streptococcus mutans* の培養液にハイドロキシアパタイトディスクを浸漬し、48 時間培養して歯垢・バイオフィルムを形成した。その後、ナノバブル（ナノバブル（ナック社）、プラスナノバブル（O 研究所）、酸素ナノバブル（R 研究所））を 3 分作用させ、その除去効果を走査電子顕微鏡にて観察した。また、同様に Live/Dead BacLight Bacterial Viability Kits component (*In vitro*gen)にて染色し、蛍光顕微鏡（Keyence:VE7000）にて観察した。（庵原・松下）。
- 3) ブタ抜去歯に、*Enterococcus Faecalis* を感染させた後、プラスナノバブルを 5 分間適用させ、48 時間後、共焦点レーザー顕微鏡にて細菌の有無を観察した（庵原）。
- 4) 感受性試験を *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (BSL1) を BHI 寒天培地にスプレッダーで塗抹し塩化ベンザルコニウム、塩化セチルピリチジウム、および殺菌作用を有するナノパーティクルを浸したろ紙を置いて 37°Cにて培養した。（庵原・松下）。
- 5) 最適な塩化ベンザルコニウムの適応を決定するため、対数増殖期の *Streptococcus mutans* に 0.001%、0.01%、0.1%の塩化ベンザルコニウムを 1 分および 3 分適応したのち、寒天培地上に播種して効果を確認した。（庵原・松下）
- 6) う蝕モデルとして、*Streptococcus mutans* の培養液にハイドロキシアパタイトディス

クを浸漬し、48 時間培養して歯垢・バイオフィルムを形成した。その後、塩化ベンザルコニウム、塩化セチルピリチジウム、およびナノパーティクル含有ナノバブルを 3 分作用させ、その除去効果を走査電子顕微鏡にて観察した。また、同様に Live/Dead BacLight Bacterial Viability Kits component にて染色し、蛍光顕微鏡にて観察した。(庵原・松下)

- 7) マウスノロウイルスをマウスマクロファージ系培養細胞に感染させ、ナノバブルおよび塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルを作用させた後、ノロウイルスの非活性化および細胞の生存率を測定した。(中西・庵原)
- 8) ブタ歯根を用いて *in vitro* 根管モデルを作製した。ナノバブル水, 50%ナノバブル水含有 8.5%EDTA 溶液, 8.5%EDTA 溶液, および 17%EDTA 製剤の 4 種類の薬剤を 5 分, 24 時間, および 72 時間根管内に作用させ、根管壁からそれぞれ 100, 300, および 500 μm 地点でのピッカー硬度を測定した。さらに、根管壁を走査電子顕微鏡にて観察した。(庵原)
- 9) *in vitro* 根管モデルを作製し、ナノバブル水 5 分, 17%EDTA 製剤 1 分, 3%EDTA 製剤 2 分, 20%クエン酸製剤 3 分, 4.25%クエン酸製剤 5 分, および蒸留水 5 分の 6 種類の洗浄液を根管に作用させ、走査電子顕微鏡にて観察した。(庵原)
- 10) イヌ難治性感染根管モデルを作製し、ナノバブルとナノパーティクルを併用して根管洗浄および貼薬を行った。その後歯髄幹細胞を移植して歯髄および根尖部歯周組織が再生されるかを検討した。(庵原)
- 11) 0.005%塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルの歯肉への浸透を確認するため、屠殺後のイヌの歯肉に適応し、UV 照射下の実態顕微鏡にて観察することで行った。(庵原)
- 12) ナノバブルによる抗生剤の浸透性を検討するために、ブタ歯根を用いた *in vitro* 根管モデルを作製した。ナノバブルに各種抗生剤を混合することによる象牙細管への薬剤浸透の比較検討をブタ抜去歯にて UV 照射下の実態顕微鏡にて観察することで行った。(庵原)
- 13) 抗生剤の口腔内細菌に対する最適な濃度を検討するため、感受性試験を行った。具体的には *Enterococcus faecalis* および *Fusobacterium nucleatum* を BHI 培地 5 ml にて培養し、培養した培地を BHI 寒天培地にスプレッダーで塗抹した。この上に下記の表の薬剤を浸したろ紙を置いて 37°C にて培養した。(庵原・松下)
- 14) ナノバブル含有塩化ベンザルコニウム含嗽剤による口腔内細菌の変化の検討するため、細菌カウンタによるナノバブル洗浄前後の歯垢、舌苔、頬粘膜細菌数測定値の比較を行った。

(倫理面への配慮)

実験動物に対する動物愛護上の配慮

動物愛護上の配慮を徹底し、国立長寿医療研究センターの動物実験倫理委員会の承認（承認番号 動 30-19, 31-17, 2-17）および、愛知医科大学の動物実験倫理委員会の承認（承認番号 2018-52, 2019-93, 2020-91）を得てその定める規則に基づき実験を行った。

感染実験に対する配慮

国立長寿色由研究センターの感染実験安全委員会の承認（承認番号 感 31-4）を得てその定める規則に基づき実験を行った。

C. 研究結果

- 1) ナノバブル（ナック社）、プラスナノバブル（O 研究所）、酸素ナノバブル（R 研究所）は浸透促進効果を有していた。（庵原）
- 2) ナノバブル（ナック社）、プラスナノバブル（O 研究所）、酸素ナノバブル（R 研究所）は、ハイドロキシアパタイトを用いたバイオフィーム除去モデルにおいて、細菌の除去効果がみられた。（庵原・松下）
- 3) プラスナノバブルにおいてはブタの抜去歯を用いた *in vitro* 根管内除菌モデルにおいて、プラスナノバブル単体では殺菌効果がみられなかった。（庵原）
- 4) 最適なナノバブルに添加する薬剤の検討で、塩化ベンザルコニウムは 0.01%以上で阻止円が確認でき、ナノバブル含有していた場合でも結果は同様であった。また、塩化セチルピリジニウムは 0.012%以上、ナノパーティクルは 1/20 希釈で阻止円が確認できた。（庵原・松下）
- 5) 塩化ベンザルコニウムの最適適応時間は、少なくとも塩化ベンザルコニウムの濃度を 0.01%以上 3 分で適応する必要があることが明らかになった。（庵原・松下）
- 6) ハイドロキシアパタイトを用いたう蝕モデルにおいては、塩化ベンザルコニウムの濃度を 0.01%以上、塩化セチルピリジニウムは 0.012%以上、ナノパーティクルを使用する場合には 50 倍希釈以上でナノバブルに添加して使用する必要があることが明らかになった。（庵原・松下）
- 7) ノロウイルスを用いてナノバブルのウイルスの非活性効果および塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルの非活性効果を確認したところ、ナノバブルは単体ではウイルスに対する非活性効果はなく、また塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルはウイルスに対する非活性効果はあったものの、塩化ベンザルコニウム単体での非活性効果と変わらなかった。（中西・庵原）
- 8) ナノバブルは薬剤の象牙質深部への浸透を高め EDTA の脱灰作用を促進させることが明らかとなった。（庵原）
- 9) ナノバブル水は根管治療におけるスミヤー層除去に有用であることが示された。（庵原）
- 10) イヌ難治性感染根管モデルにおいてナノバブル水と抗菌薬を併用して根管洗浄およ

び貼薬を行ったところ、数回の根管治療で、有意に除菌できた。その後歯髄幹細胞を移植して歯髄および根尖部歯周組織が再生されることを明らかにした。（庵原・中島）

- 11) 塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルの歯肉への浸透実験の結果、塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルのほうが、テトラサイクリンの歯肉への浸透が明らかにみられた。また、ナノバブル含有塩化ベンザルコニウムは表皮にのみ浸透し、真皮までは浸透していなかった。（庵原）
- 12) ナノバブルによる抗生剤の浸透性を検討した結果、ナノバブルはアモキシリン、アジスロマイシン、バンコマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ドキシサイクリン、シプロフロキサシン、モキシフロキサシンにおいて、混合しても浸透効果を減弱しなかった。（庵原）
- 13) 肺炎球菌の原因菌と一つである *Fusobacterium nucleatum* には低濃度であってもペニシリン以外は効果が見られ、*Enterococcus faecalis* はアジスロマイシン、バンコマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ドキシサイクリン、シプロフロキサシン、モキシフロキサシンは高濃度でなければ効果はみられなかった。（庵原、松下）
- 14) 歯面を塩化ベンザルコニウムおよびナノバブル含有塩化ベンザルコニウムにて洗浄したところ、ナノバブル含有含嗽液は有意に細菌数の減少がみられた。また、頬粘膜および舌面を同様に洗浄したところ、有意差はなかったものの、ナノバブル含有含嗽液は細菌数の減少傾向がみられた。（庵原）

D. 考察と結論

最適なナノバブルの検討

今回の結果により、浸透促進効果がみられたのは、ナノバブル（ナック社）、プラスナノバブル（O 研究所）、酸素ナノバブル（R 研究所）であった。これらの、ナノバブルは、ハイドロキシアパタイトを用いたバイオフィーム除去モデルにおいて、それぞれ、細菌の除去効果がみられた。一方、プラスナノバブルにおいてはブタの抜去歯を用いた *in vitro* 根管内除菌モデルにおいて、プラスナノバブル単体では殺菌効果がみられなかった。また、バイオフィーム除去モデルにおいても、ナノバブル（ナック社）、プラスナノバブル（O 研究所）、酸素ナノバブル（R 研究所）を適応しても、Live/Dead 染色においては死菌がほとんどみられなかった。よって、これらのナノバブルには細菌除去効果はあっても殺菌作用はないと考えられる。よって、今後これらのナノバブルに抗菌薬を加えた、適切な含嗽剤を検討していく。

ナノバブル含有含嗽剤に最適な薬剤の検討

今回の結果より、少なくとも塩化ベンザルコニウムの濃度を 0.01%以上、塩化セチルピ

リチジウムは 0.012%以上、ナノパーティクルを使用する場合には 50 倍希釈以上でナノバブルに添加して使用する必要があることが明らかになった。しかし、塩化ベンザルコニウムを含嗽剤として使用する効能をうたっている濃度は 0.001%以下であるため、臨床ではこの濃度では使用できない。よって、今後、非臨床研究および臨床研究に進むにあたり、塩化セチルピリチジウムもしくはナノパーティクルを含嗽剤に添加して使用することが、より殺菌効果を高めるため有効であると考えられる。ただ、塩化セチルピリジニウムにおいてはナノバブル（ナック社）と併用すると、浸透効果がなくなることが明らかになっていたが、今回プラスナノバブルを使用すると、浸透効果が阻害しなかったことから、塩化セチルピリジニウムを使用する場合はプラスナノバブルを使用した方が良いと考えられる。

塩化ベンザルコニウム含有ナノバブル水のノロウイルスへの殺菌効果の検討

今回の結果より、ナノバブルは単体ではノロウイルスに対する非活性効果はなく、また塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルはノロウイルスに対する非活性効果はあったものの、塩化ベンザルコニウム単体での非活性効果と変わらなかった。

閉塞根管拡大のためのナノバブル水含有 EDTA による脱灰効果促進

ナノバブル水の薬剤導入作用により EDTA を象牙質深部まで浸透させ、脱灰作用を促進し閉塞根管を拡大できる可能性が示唆された。ナノバブル水含有 EDTA は根管処置に要するチェアタイムならびに治療期間を大きく短縮できる。また、穿通することにより症状が緩解でき、抜歯を回避し歯の保存に貢献できる可能性が期待できる。

ナノバブル水を用いた新規根管洗浄液のスミヤ層除去効果の検討

ナノバブル水は、他の化学的洗浄液と比べて、象牙質壁を軟化させずにスミヤ層を除去することができる点において有利であると考えられる。今後、臨床にナノバブル水を応用するにあたって、温度や保存容器などナノバブル水の保管方法や、持続効果についてより詳細に研究を進めていく予定である。

ナノパーティクル含有ナノバブル水を用いた除菌後の難治性感染根管歯における歯髄再生

ナノパーティクル含有ナノバブルにより根管内の除菌および感染制御ができ、歯髄組織再生をより確実なものにすることができると示唆された。

口腔粘膜に対するナノバブルによる含嗽液浸透度の検討

新型コロナウイルス（SARS-CoV2）を含む、粘膜に入り込んだウイルスに対してもナノバブルの薬剤浸透促進効果による薬剤の影響を期待することが出来ると考えられた。抗生剤含有ナノバブル含嗽剤は抗生剤によってはナノバブルの浸透効果を期待して使用できる事が明らかになったが、適応する際には耐性菌を出現しないように濃度に注意す

る必要がある。

ナノバブル含嗽液の口腔清掃への有効性の検討

決定した 0.005%塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルの口腔内清掃における有効性が明らかとなった。一方、今回の実験はイヌ 4 頭を用いて行われたが、頬粘膜と舌面における有効性は傾向が認められるものの、有意差を明らかにすることはできなかった。これより、実際の臨床研究を行う際にはより多くの人数を対象に行う必要があると考えられる。

E. 結論

- 1) 含嗽剤として有用なナノバブルはナノバブル (ナック社)、プラスナノバブル (O 研究所)、酸素ナノバブル (R 研究所) であった。
- 2) 塩化セチルピリチジウムもしくはナノパーティクルを含嗽剤に添加して使用することにより、より殺菌効果が高められた。
- 3) ナノバブルは単体ではノロウィルスに対する非活性効果はなく、また塩化ベンザルコニウム含有ナノバブルはノロウィルスに対する非活性効果はあったものの、塩化ベンザルコニウム単体での非活性効果と変わらなかった。
- 4) ナノバブル水は薬剤の象牙質深部への浸透を高め EDTA の脱灰作用を促進させた。
- 5) ナノバブル水は根管治療におけるスミヤー層除去に有用である。
- 6) ナノパーティクル含有ナノバブルにより根管内の除菌および感染制御ができ、歯髄組織再生をより確実なものにすることができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

2018年度

- 1) Iohara K, Utsunomiya S, Kohara S, Nakashima M. Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells with the mismatched dog leucocyte antigen type is safe and efficacious for total pulp regeneration. *Stem Cell Res Therapy*. 9:116, 2018.
- 2) 中島 美砂子、庵原 耕一郎 「一患者まで届いている再生医療— 「歯髄・象牙質再生治療の現状」日本再生医療学会雑誌 再生医療. 18(1):34-39, 2019.
- 3) Nakashima M, Iohara K, Bottino MC, Fouad A, Nör JE, Huang GTJ. Animal models for stem cell-based pulp regeneration: Foundation for human clinical applications. *Tissue Engineering, Part B*: 2019;25(2):100-113.

- 4) 庵原 耕一郎、中島 美砂子. 閉塞根管拡大のためのナノバブル水含有 EDTA による脱灰効果促進. 日歯保存誌. 62(3) : 152-158, 2019.
- 5) 庵原 耕一郎、中島 美砂子. ナノバブル水を用いた新規根管洗浄液のスミヤー層除去効果の検討. 日歯保存誌. 62(3) : 159-164, 2019.

2019年度

- 1) Iohara K, Utsunomiya S, Kohara S, Nakashima M. Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells with the mismatched dog leucocyte antigen type is safe and efficacious for total pulp regeneration. *Stem Cell Res Therapy*. 9:116, 2018.
- 2) 中島 美砂子、庵原 耕一郎 「患者まで届いている再生医療— 「歯髄・象牙質再生治療の現状」 日本再生医療学会雑誌 再生医療. 18(1):34-39, 2019.
- 3) Nakashima M, Iohara K, Bottino MC, Fouad A, Nör JE, Huang GTJ. Animal models for stem cell-based pulp regeneration: Foundation for human clinical applications. *Tissue Engineering, Part B*: 2019;25(2):100-113.
- 4) 庵原 耕一郎、中島 美砂子. 閉塞根管拡大のためのナノバブル水含有 EDTA による脱灰効果促進. 日歯保存誌. 62(3) : 152-158, 2019.
- 5) 庵原 耕一郎、中島 美砂子. ナノバブル水を用いた新規根管洗浄液のスミヤー層除去効果の検討. 日歯保存誌. 62(3) : 159-164, 2019.

2020年度

- 1) Iohara K, Zayed M., Takei M., Watanabe H., Nakahima M. Treatment of pulpectomized teeth with trypsin prior to transplantation of mobilized dental pulp stem cells enhances pulp regeneration in aged dogs. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:983. doi: 10.3389/fbioe.2020.00983.
- 2) Shawli H., Iohara K, Taroush M., Huang GT., Nakashima M., Azim AA. Nanobubble-Enhanced antimicrobial agents: A promising approach for regenerative endodontics. *J Endodontics* 2020;46(9):1248-1255.
- 3) Zayed MH., Iohara K. Effects of p-Cresol on senescence, survival, inflammation, and Odontoblast differentiation in canine dental pulp stem cells. *Int J Mol Sci* 2020;21(18):6931. doi: 10.3390/ijms21186931
- 4) Zayed MH., Iohara K. Immunomodulation and regeneration properties of dental pulp stem cells: A potential therapy to treat COVID-19. *Cell Transplant* Jan-Dec 2020; 29:963689720952089. doi: 10.1177/0963689720952089.
- 5) Iohara K, Zayed MH., Watanabe H., Ishikawa M., Nakashima M. Characterization of stable hypoxia-preconditioned dental pulp stem cells compared with mobilized dental pulp stem cells for application for pulp regenerative therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2021. doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-102950/v2>

2. 学会発表

2018年度

- 1) 中島美砂子、庵原耕一郎: 「CCR3 拮抗剤を併用した歯髄幹細胞治療法による高齢イヌにおける歯髄再生促進」第 148 回日本歯科保存学会春季学術大会 横浜 2018 年 6 月 14 日
- 2) Nakashima M., Iohara K.: 「Pulp regeneration is enhanced by trypsin in the aged teeth. 」 96th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research (IADR)/IADR Pan European Regional Congress. London, England. July 26, 2018.
- 3) 庵原耕一郎、中島美砂子: 「ナノバブルの辺縁性歯周炎治療への応用」 第 149 回日本歯科保存学会秋季学術大会 京都 2018 年 11 月 1 日

2019年度

- 1) Iohara K., Nakashima M.: 「Enhanced delivery of EDTA by nanobubbles into dentin for efficient demineralization to enlarge constricted root canals. IADR Pulp Biology and Regeneration Group Satellite Meeting. Portland, Oregon, USA. June 24, 2019.
- 2) 渥美優介, 島垣昌明, 栗原欣也, 中本和希, 蒔苗亜紀, 中島美砂子, 庵原耕一郎, 川島伸之, 興地隆史, 鈴木孝尚: 「新規開発多孔膜を備えた膜分取培養容器 VIVANT-CELL(r)にて分離・培養した歯髄幹細胞の特性評価」組織培養学会 東京 2019 年 7 月 6 日
- 3) 庵原耕一郎、Mohammed Zayed、中島美砂子: 「トリプシン前処理および CCR3 拮抗剤含有非細胞性根管充填材を用いた若齢歯の歯髄再生」第 151 回日本歯科保存学会春季学術大会 福岡 2019 年 11 月 8 日
- 4) 庵原耕一郎: 「帯電性ナノバブルの難治性感染根管歯に対する治療効果促進」第 8 回日本マイクロ・ナノバブル学会学術大会 福岡 2019 年 12 月 8 日

2020年度

- 1) 庵原耕一郎、Mohammed Zayed、武井佳史、渡辺秀人、中島美砂子: 「高齢イヌにおける歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療の Trypsin 前処理による促進法の開発」第 52 回日本結合組織学会学術大会 2020 年 9 月 19 日 Web 開催
- 2) 庵原耕一郎、森川直樹、岸田成史、大平 猛、中島 美砂子: 「プラス帯電性ナノバブル含有 3Mix による イヌ重度感染根管の除菌後、歯髄幹細胞移植による歯髄再生」第 20 回日本再生医療学会総会 2021 年 3 月 15 日 Web 開催
- 3) 村居良祐、永井寛之、牧島亮太、越田一朗、米田健二、中島美砂子、庵原耕一郎: 「歯髄幹細胞を用いた細胞 Pad の移植による象牙質再生」第 20 回日本再生医療学会総会 2021 年 3 月 15 日 Web 開催

3. その他

- (1) シンポジウム、特別講演

2018年度

- 1) Koichiro Iohara, Misako Nakashima.

Symposium: Root canal irrigation and medicaments for pulp regenerative therapy.

Potential utility of nanobubbles for pulp regeneration and root canal treatment.

96th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research (IADR)/IADR Pan European Regional Congress. July 26, 2018. London, England.

2019年度

- 1) Nakashima M, Iohara K. Symposium: 「Pulp Regeneration: Current approaches, challenges, and novel rejuvenating strategies for an aging population. Potential utility of nanobubbles for pulp regeneration and root canal treatment. 」 IADR Pulp Biology and Regeneration Group Satellite Meeting. June 23, 2019. Portland, Oregon, USA.
- 2) Nakashima M, Iohara K. 「Lessons Learned from a Clinical Study for Total Pulp Regeneration in Mature Permanent Teeth」 97th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research (IADR). June 22, 2019. Vancouver, Canada
- 3) 庵原耕一郎 シンポジウム 近未来の歯科医療「歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生治療と今後の展望」 International Congress of Oral Implantologists (ICOI) 東京 2019年7月14日
- 4) 庵原耕一郎 「歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療と今後の展望」第4回しずい細胞プロジェクトイノベーション研究会 岐阜 2019年12月13日

(2) 受賞

庵原耕一郎、中島美砂子

Trypsin 前処理による高齢の歯髄再生促進治療法の開発

第147回日本歯科保存学会秋季学術大会 カボデンタル優秀ポスター賞 2018年6月15日

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許

1. 特許出願

2018年度

- 1) 発明者：中島美砂子、庵原耕一郎
名称：非細胞性歯組織再生促進キット
出願日：2017年9月29日
出願番号：特願 2017-190744
国際出願日：2018年9月21日
国際出願番号：PCT/JP2018/034948

出願人：国立長寿医療研究センター

- 2) 発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

名称：非細胞性根管充填材及び非細胞性歯組織再生促進キット

出願日：2019年3月28日

出願番号：特願 2019-062054

出願人：国立長寿医療研究センター

2019年度

- 1) 発明者：庵原耕一郎、中島美砂子

発明の名称：象牙質再生用細胞培養物

出願日：2019年8月9日

出願番号：特願 2019-147175

出願人：国立長寿医療研究センター

2020年度

- 1) 発明者：庵原耕一郎、中島美砂子

発明の名称：象牙質再生用細胞培養物

出願年月日：2019年8月9日（国内）

2020年7月28日（国外）

出願番号：特願 2019-147175（国内）

PCT/JP2020/028838（欧州、米国、中国、台湾）

出願人：国立長寿医療研究センター

2. 特許取得

2018年度

- 1) 発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

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

出願日：2011年2月28日

出願番号：特願 2011-042862

国際出願日：2012年1月31日

出願番号：PCT/JP2012/052155（WO2012/117793 A1）

米国出願番号：13/985,111

特許取得日：2018年5月8日（米国）

特許登録番号：9962237

権利者：国立長寿医療研究センター

2019年度

- 1) 発明者：中島洋司(有限会社中島工業)、中島美砂子、庵原耕一郎、山田和正、

発明の名称：患部浸透亢進性薬剤組成物の製造方法

特許登録番号：6574785

登録日：2019年8月23日

2) 発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：非抜歯根管充填材及び非抜歯による歯組織再生方法

出願日：2010年9月10日

PCT 出願番号：PCT/JP2010/005536

特許取得：2019年4月17日（欧州）イギリス、ドイツ、フランス

特許証：特許 EU 2,476,442

権利者：国立長寿医療研究センター

2020年度

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：歯科用前処理材及び歯組織再生キット

出願番号：PCT/JP2017/13572

登録日：2020/6/2

登録国：米国

登録番号：10668134

米国出願番号：16/651,483

特許取得日：2020年6月2日（米国）

特許登録番号：10668134

3. 実用新案登録

なし

4. その他

なし