

SNP 解析をおこなった。

(倫理面への配慮)

施設内倫理委員会、動物委員会で承認を受け、規定を遵守し研究を行った。

C. 研究結果

1. ルシフェラーゼアッセイでは、精製リポ蛋白質は NF- κ B を活性化し、Control に比べ、8.4 倍の上昇がみられた ($P=0.0001$)。合成リポペプチドにおいても、NF- κ B を活性化し、Control に比べ、24.9 倍の上昇がみられた ($P=0.0122$)。妊娠マウスへの精製リポ蛋白質の子宮内投与では、38.5% (20/52) の胎仔死亡が確認され、Control 群の 14.0% (7/50) を有意に上回った ($P=0.005$)。合成リポペプチドにおいても、57.9% (11/19) の胎仔死亡が確認され、Control 群の 18.1% (4/22) を有意に上回った ($P=0.009$)。胎盤では labyrinth 領域における絨毛構造の萎縮・母仔間境界面の減少といった所見が得られた。

2. 平均粒子径 70nm のみ胎盤に粒子が集積した。さらに 70nm 粒子はマウス胎盤の Spongiotrophoblast 層を特異的に障害し、アポトーシスを誘導した。これらの所見は 300nm あるいは 1000nm の粒子では認められなかった。

3. アネキシン A5 という遺伝子の遺伝暗号の配列の個人差で、習慣性流産の女性患者の 10-20% が高リスク型を持っており、高リスク型を持つと習慣性流産のリスクが約 2 倍増加すると考えられた。胎盤は、胎児が母体血液から酸素や栄養分を受け取る臓器だが、アネキシン A5 は胎盤の中の胎児側表面をおおって、ゆっくりと流れている母体血が胎盤の表面で凝固することから保護する作用を持つ。アネキシン A5 遺伝子の配列が高リスク型の女性の場合は、通常型の女性よりもアネキシン A5 の産生量が低く、そのため胎盤内で血液が凝固しやすくなり、胎児の発育が阻害され、流産の回数が増えると推定された。

D. 考察

1. KOCH の原則に倣い、ウレアプラズマによる免疫反応惹起機構の解析 (病原因子探索) を行った。精製したリポ蛋白質及び、合成リポペプチド

は共に TLR2 を介して細胞内にシグナルを伝達することを示した。次に精製リポ蛋白質及び、合成リポペプチドを妊娠マウスの子宮内に投与した結果、今回用いた投与量においては、マウスに胎内死亡を起こすことがわかった。今後さらに解析を進める。

2. 粒子径によって胎盤機能障害が惹起されることがわかった。今後はそのメカニズムについて解析を進める。

3. 今回の日本人 SNP 研究から、習慣性流産の患者ではアネキシン A5 の遺伝子多型を調べて、高リスク型を持つ患者に対しては抗凝固療法をおこなう、という新しい治療戦略の可能性が示された。

E. 結論

ウレアプラズマの病原因子を同定し、長らく議論されてきた病原性を証明した。また、従来考えられなかった粒子径が病原発揮に寄与する可能性を示した。

個々の習慣性流産の女性に対して、ゲノム情報を利用して患者を区別し、それぞれの患者に対して最も効果のある治療法を選択するという、いわゆる「習慣性流産のパーソナライズド医療」への第一歩として期待される結果となった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyamura H, Nishizawa H, Ota S, Suzuki M, Inagaki A, Egusa H, Nishiyama S, Kato T, Pryor-Loishi K, Nakanishi I, Fujita T, Ymayoshi Y, Markoff A, **Yanagihara I**, Udagawa Y, Kurahashi H. Polymorphism in *annexin A5* gene promoter in Japanese women with recurrent pregnancy loss. *Molecular Human Reproduction*. in press.
- 2) Nozaki M, Wakae K, Tamaki N, Sakamoto S, Ohnishi K, Uejima T, Minato N, **Yanagihara I***, Agata Y. Regulation of T cell receptor V γ 2 gene rearrangement by the Helix-Loop-Helix protein, E2A. *International Immunology*, in press
- 3) Ohnishi K, Nakahira K, Unzai S, Mayanagi K,

- Hashimoto H, Honda T, **Yanagihara I***
Relationship between heat-induced
fibrillogenicity and hemolytic activity of
thermostable direct hemolysin and a related
hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. FEMS
Microbiology letters, in press
- 4) **Yanagihara I***, Nakahira K, Yamane T, Kaieda
S, Mayanagi K, Hamada D, Fukui T, Ohnishi K,
Kajiyama S, Shimizu T, Sato M, Ikegami T,
Ikeguchi M, Honda T, Hashimoto H. Structure
and functional characterization of *Vibrio*
parahaemolyticus thermostable direct
hemolysin. The Journal of Biological Chemistry,
285(21), pp16267-74, 2010
- 5) Nishihara M, Sonoda M, Matsunami K,
Yanagihara K, Yonemoto N, Ida S, Namba F,
Shimomura I, **Yanagihara I***, Waguri M. Birth
length is a predictor of adiponectin levels in
Japanese young children. Journal of Pediatric
Endocrinology & Metabolism, 23, pp913-920,
2010
- 6) Nishihara M, Yamada M, Nozaki M, Nakahira
K, **Yanagihara I***. Transcriptional regulation of
the human *establishment of cohesion 1 homolog*
2 gene. Biochemical and Biophysical Research
Communications, 393(1), pp111-7, 2010
- 7) Namba F, Hasegawa T, Nakayama M,
Hamanaka T, Yamashita T, Nakahira K, Kimoto
A, Nozaki M, Nishihara M, **Mimura K**, Yamada
M, Kitajima H, Suehara N, **Yanagihara I***.
Placental features of chorioamnionitis colonized
with *Ureaplasma* species in preterm delivery.
Pediatric Research, 67(2), pp166-72, 2010
- 8) Hamada D, Hamaguchi M, Suzuki KN, Sakata I,
Yanagihara I. Cytoskeleton-modulating
effectors of enteropathogenic and
enterohemorrhagic *Escherichia coli*: a case for
EspB as an intrinsically less-ordered effector.
FEBS J, 277(11), pp2409-15, Review, 2010
- 9) **Mimura K**, Tomimatsu T, Sharentuya N,
Tskitishvili E, Kinugasa-Taniguchi Y,
Kanagawa T, Kimura T. Nicotine restores
endothelial dysfunction caused by excess sFlt1
and sEng in an in vitro model of preeclamptic
vascular endothelium: a possible therapeutic
role of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR)
agonists for preeclampsia. Am J Obstet Gynecol.
202(5), pp464.e1-6. 2010
- 10) Kinugasa-Taniguchi Y, Tomimatsu T, **Mimura**
K, Kanagawa T, Shimoya K, Murata Y, Kimura
T. Human C-reactive protein enhances
vulnerability of immature rats to
hypoxic-ischemic brain damage: a preliminary
study. Reprod Sci. 17(5), pp419-25. 2010
- 11) Sharentuya N, Tomimatsu T, **Mimura K**,
Tskitishvili E, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa
T, Kimura T. Nicotine suppresses interleukin-6
production from vascular endothelial cells: a
possible therapeutic role of nicotine for
preeclampsia. Reprod Sci. 17(6), pp556-63. 2010
- 12) Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K,
Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa
T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya
K. Oxidative stress-induced S100B protein from
placenta and amnion affects soluble Endoglin
release from endothelial cells. Mol Hum Reprod.
16(3), pp188-99. 2010
- 13) 橋本博、山根努、池口満徳、中平久美子、柳
原格。「腸炎ビブリオが産生する耐熱性溶血
毒 TDH の構造と機能」。日本結晶学会誌、
52, 285-289, 2010
- 14) 中山聡一郎、中山雅弘、味村和哉、光田信明。
「妊娠高血圧症候群の病態解明—分子機構を
中心に—胎盤からみた妊娠高血圧症候群」。産
婦人科の実際、59, 1005-1011, 2010
2. 学会発表
- 1) 太田小百合、宮村浩徳、西澤春紀、稲垣文香、
江草悠美、藤田富雄、柳原格、宇田川康博、
倉橋浩樹。「習慣流産におけるアネキシン
A5 遺伝子多型の検討」、第 33 回日本分子生
物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同
大会、2010.12.7 - 10、神戸、ポスター
- 2) 柳原格、中平久美子、大西紀陽久、本田武司。
「腸炎ビブリオの産生する TDH の構造学的
解析」、第 83 回日本細菌学会総会、
2010.3.27-29、横浜、ワークショップ口演&ポ
スター
- 3) 柳原格、中平久美子、大西紀陽久、真柳浩太、
橋本博、本田武司。「腸炎ビブリオの産生す
る thermostable direct hemolysin (TDH) の
構造学的解析」、第 57 回トキシシンポジ

- ウム、2010. 7. 14-16、大津、オーラル
- 4) **柳原格**. 「ウレアプラズマ感染 — 流早産そして次世代への影響—」、第 37 回日本マイコプラズマ学会 2010.6.10-11、東京、シンポジスト
 - 5) 北島博之、**柳原格**. 「ウレアプラズマ感染早産胎盤における絨毛膜羊膜炎の病理像」、近畿腸管微生物研究会、2010.6.5、大阪、口演
 - 6) **柳原格**. 「LPS 誘導性早産モデルマウスに対するチオレドキシンの有効性」、京都大学ウイルス研究所ミニシンポジウムレドックス生命医学の展望 (ATL Allergy TRX)、2010.3.15、京都、招待講演
 - 7) 内田薫、清水隆、**柳原格**. 「妊娠マウスを用いた *Ureaplasma parvum* 由来 multiple banded antigen (MBA) による胎内炎症惹起機構の解明」、第 37 回日本マイコプラズマ学会、2010.6.10-11、東京、オーラル
 - 8) 内田薫、野崎昌俊、**柳原格**. 「妊娠マウスを用いた *Ureaplasma parvum* による胎内炎症惹起機構の解明を目指して」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010.7.11-13、神戸、オーラル&ポスター
 - 9) **味村和哉**、藤田富雄、中山雅弘、**光田信明**、**柳原格**. 「当センターの原因不明不育症患者における 1st trimester 流産検体の病理学的所見の分類」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010.7.11-13、神戸、オーラル&ポスター
 - 10) 奥山宏臣、清水義之、佐々木隆士、内田薫、**柳原格**、稲村昇. 「胎児消化管におけるサーフアクタント蛋白質 A と D の局在と産生に関する検討」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010.7.11-13、神戸、オーラル&ポスター
 - 11) 野崎昌俊、難波文彦、内田薫、西原正泰、**柳原格**. 「Lipopolysaccharide(LPS)誘発早産モデルマウスにおけるチオレドキシシン (TRX) の早産抑制効果」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010.7.11-13、神戸、ポスター
 - 12) 野崎昌俊、**柳原格**、縣保年「bHLH 転写因子 E2A による V γ 2 遺伝子再構成の制御機構」、第 20 回 Kyoto T cell Conference、2010.6.4-5、京都、オーラル
 - 13) 宮村浩徳、西澤春紀、稲垣文香、江草悠美、藤田富雄、**柳原格**、宇田川康博、倉橋浩樹. 「アネキシン A5 遺伝子多型と習慣流産の関連」、第 55 回日本人類遺伝学会総会、2010.10.28-30、大宮、ポスター
 - 14) **味村和哉**. 「癒着胎盤におけるトロホプラスト侵入規定因子の解析」、第 62 回日本産科婦人科学会、2010.4.23-25、東京、ポスター
 - 15) Hiroshi Hashimoto, Kumiko Nakahira, Tsutomu Yamane, Takashi Fukui, Kiyohisa Ohnishi, Toshiyuki Shimizu, Takeshi Honda, Mitsunori Ikeguchi, Mamoru Sato, **Itaru Yanagihara**. 「Structural study of thermostable direct hemolysin from *Vibrio parahaemolyticus*」、日本生物物理学会総会、2010. 9-20-22、仙台、ポスター
 - 16) Masatoshi Nozaki, Nobuyuki Tamaki, Shuji Sakamoto, **Itaru Yanagihara**, Yasutoshi Agata. 「Regulation of V γ 2 gene rearrangement by the helix-loop-helix protein, E2A」14th International Congress of Immunology、2010.8.22-17、神戸、ポスター
 - 17) **Itaru Yanagihara**, 「The pathological findings and molecular mechanisms of *Ureaplasma* spp. infection in preterm delivery」7th European Society for Infectious Diseases in Obstetrics and Gynaecology (ESIDOG), 2010.10.2-5, Trieste, Italy, Invited Speaker
 - 18) Mitsuhide Hamaguchi, Yoshinori Murao, Masahiro Tanaka, Noriko Tsuda, Toshihumi Uejima, Katsuyuki Maruyama, **Itaru Yanagihara**, Ikuhiro Sakata. 「The mRNA expression of fatty acid amide hydrolase in human whole blood may correlate with recovery in patients with sepsis」第 38 回日本救急医学会学術集会、2010. 10. 9-11、東京、ポスター
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
 - (1)特許公開 2010-90055、淀井淳司、三浦美樹子、**柳原格**、難波文彦、中平久美子. 母体投与用薬実用新案登録
 - (2)特許公開 2008-81467
梶野勉、福嶋喜章、岩井覚司、松田雅敏、濱田大三、**柳原格**. 人工的に自己組織能が付与された合成タンパク質及びその複合体並びに複合

体の製造方法

2. その他

- (1) 藤田保健衛生大倉橋浩樹、母子センター研究所柳原格ら、「習慣流産の遺伝子発見」
2011/02/02 毎日新聞 朝刊、中日新聞 朝刊、朝日新聞 朝刊
web page
日本経済新聞、朝日新聞、毎日新聞、中日新聞、47NEWS(共同通信)、東京新聞、大阪日日新聞、京都新聞、その他
- (2) 柳原格、橋本博. 加熱しても消えない、食中毒原因菌・腸炎ビブリオの毒性に迫れ!! 「SPring-8 NEWS」55号の「研究成果・トピックス欄」2011年3月号掲載予定
- (3) 柳原格、本田武司. 「加熱で再び毒性」の謎解明、朝日新聞科学欄、2010.5.25
- (4) 柳原格、橋本博、本田武司. 「食中毒原因菌の腸炎ビブリオの毒性は加熱してもなぜ消えないのか? - 腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒(TDH)の構造解明」SPring-8 ホームページ、プレスリリーストピックス、2010.5.21
http://www.spring8.or.jp/ja/news_publications/press_release/2010/100521
- (5) 柳原格. 「食中毒の原因、腸炎ビブリオ～加熱しても毒が消えない理由～」、播磨科学公園都市・研究最前線 28、バンカル(神戸新聞)、77 秋号、pp74-77、2010
- (5) 柳原格. 「加熱すると毒性が戻る不思議な菌: 感染症と災害(2)」、アピタル、エマージェンシー・コール、朝日新聞ホームページ asPara クラブ、2010.6.26

産流習慣

遺伝子配列解明

藤田保健衛生大

効果的治療に期待

藤田保健衛生大学(愛知県豊明市)は1

日、一部の女性が流産しやすくなる遺伝子の塩基配列を大阪府立母子保健総合医療センター研究所との共同研究で突き止めたと発表し

た。遺伝子分析によって、妊婦にもっとも効果のある治療ができるとしている。欧州の学術誌「モレキュラー・ヒューマン・リプロダクション」のオンライン

版に近く掲載される。

流産するとされるが、何度も繰り返す女性が

あり、3回以上は「習慣流産」と呼ばれる。一部は染色体異常や感染症などが原因と分かっているが、6割以上は不明だった。

倉橋浩樹・藤田保健衛生大教授らは、血液凝固を防ぐたんぱく質「アネキシンA5」の生成を制御する遺伝子に着目。習慣流産する女性の場合、この遺伝子の塩基配列が通常と異なっている割合が、正常妊娠する女性に比べ2倍前後に達すること

が分かった。アネキシン生成量が少ないため胎盤で母体の血液が凝固、胎児の発達が阻害され、流産につながる

と推定されるという。習慣流産の女性の遺伝子を分析し、該当する女性のみ抗凝固療法を行えば、出産につながる可能性があるという。倉橋教授は「もっとも効果のある治療法が選択できる。子どもをほしくても持てなかつた夫婦に夢を与える結果になってほしい」と話した。

【山田一晶】

【山田一晶】

【山田一晶】

【山田一晶】

【山田一晶】

【山田一晶】

【山田一晶】

「習慣流産」遺伝子を発見

藤田保健衛生大

効果的治療に期待

妊娠しても流産を繰り返す「習慣流産」の危険性を高める遺伝子を、藤田保健衛生大学(愛知県豊明市)の倉橋浩樹教授(分子遺伝学)らの研究チームが発見し、1日に発表された。妊婦がこの型の遺伝子を持つかどうかを調べれば、効果的に薬を投与して治療できる可能性がある。近く欧州ヒト生殖学会の学会誌電子版に掲載される。

3回以上の流産を繰り返す習慣流産は全妊娠の1〜2%とみられる。染色体異常や感染症などがかわつていてと考えられているが、多くは原因がわかっていない。

妊婦の胎盤内側の表面では、血液がゆつくりと流れて胎児に栄養を送っている。倉橋教授らは、この血液が固まるのを防ぐたんぱく質「アネキシンA5」に着目。習慣流産の女性243人と、そうでない女性118人について、このたんぱく質の遺伝子を調べた。

その結果、流産を繰り返す女性では、このたんぱく質の遺伝子の6カ所で、流産しない人たちと配列が異なっている割合が高かった。配列が異なっている場合、このたんぱく質が十分に作られず、胎盤内で血液が固まりやすくなり、胎児が育たずに流産につながると思われる。

血が固まるのを防ぐ治療薬はすでに広く使われており、今後、習慣流産の妊婦の遺伝子型を調べて配列の違いがあることが分かれば、薬を使って流産を防ぐことができるといふ。

(高山裕喜)

習慣流産の遺伝子発見

三回以上流産を繰り返す習慣流産の原因の一つとなる遺伝子を、藤田保健衛生大(愛知県豊明市)の倉橋浩樹教授、宮村浩徳助教、大阪府立母子保健総合医療センター研究所免疫部門の柳原格部長らのグループが突き止めた。欧州の国際生殖学会誌「モレキュラー・ヒューマン・リプロダクション」電子版に近く発表する。

藤田衛生大教授ら

これまで習慣流産の原因の一部に、胎盤の中で過剰に血液が固まり、胎児の発育が阻害される数種類の病気があると知られていた。グループはこれらの病気以外にも、血液の凝固が原因となる習慣流産があると考え、母親の血液が固まるのを防ぐ働きを持つタンパク質「アネキシンA5」に注目した。

原因不明の習慣流産の患者二百四十三人と、健常者百十八人の血液を調べ、アネキシンA5を作る遺伝子のうち六カ所の塩基対について、異常の多さを比較。すると、患者の10〜22%に遺伝子の異常があったが、健常者は6〜13%しかなく、習慣流産の患者の

「治療で副作用」低減も

方が健常者より平均二倍、異常の割合が多かった。グループは、遺伝子に異常があると、アネキシンA5の作られる量が少なく、胎盤内で血液が固まることを防げずに、流産の回数が増えることを推定した。

これまで、原因不明の患者に血液が固まらないよう溶かす薬を使うと、血液の凝固以外が原因だった場合に、出血などの副作用が出る恐れがあった。研究の中心となった宮村助教は「遺伝子を調べて、異常がある患者だけに血液が固まるのを溶かす薬を使つた場合、オーダーメイドの治療につなげられる可能性がある」と話している。

中日新聞 習慣流産の遺伝子発見 愛知の藤田保健衛生大教授ら社会 (CHUNICHI Web) - Windows Internet Explorer

http://www.chunichi.co.jp/article/201102020015719.html

中日新聞 習慣流産の遺伝子発見 愛知の藤田保健衛生大教授ら社会 (CHUNICHI Web)

中日環境net

【地域のニュース】 愛知 ▶ 岐阜 ▶ 三重 ▶ 静岡 ▶ 長野 ▶ 福井 ▶ 滋賀 ▶ 石川 ▶ 富山

ホーム 社会 政治 経済 国際 スポーツ 特集・連載 社説・コラム
 天気 ウーマン 環境 住まい 就職・転職 グルメ 教育 クルマ 旅行 囲碁・将棋 暮らし 医療 科学 イベント

トップ > 社会 > 産科ニュース一覧 > 記事

【社会】

習慣流産の遺伝子発見 愛知の藤田保健衛生大教授ら

2011年2月2日 02時09分

3回以上流産を繰り返す習慣流産の原因の一つとなる遺伝子を、藤田保健衛生大(愛知県豊明市)の倉橋浩樹教授、宮村浩徳助教、大阪府立母子保健総合医療センター研究所免疫部門の柳原裕部長らのグループが突き止めた。欧州の国際生殖学会誌「モレキュラー・ヒューマン・リプロダクション」電子版に近く発表する。

これまで習慣流産の原因の一部に、胎盤の中で過剰に血液が固まり、胎児の発育が阻害される数種類の病気があったと知られていた。グループはこれらの病気以外にも、血液の凝固が原因となる習慣流産があると考え、母親の血液が固まるのを防ぐ働きを持つタンパク質「アネキシンA5」に注目した。

原因不明の習慣流産の患者243人と、健康者118人の血液を調べ、アネキシンA5を作る遺伝子のうち6カ所の塩基対について、異常の多さを比較。すると、患者の10~22%に遺伝子の異常があったが、健康者は6~13%しかなく、習慣流産の患者の方が健康者より平均2倍、異常の割合が多かった。

グループは、遺伝子に異常があると、アネキシンA5の作られる量が少なく、胎盤内で血液が固まることを防ぎず、流産の回数が増えるかと推定した。

これまで、原因不明の患者に血液が固まらないよう溶かす薬を使うと、血液の凝固以外が原因だった場合に、出血などの副作用が出る恐れがあった。研究の中心となった宮村助教は「遺伝子を調べて、異常がある患者だけに血液が固まるのを溶かす薬を使うなど、オーダーメイドの治療につなげられる可能性がある」と話している。

(中日新聞)

この記事を印刷する

名古屋めしを代表する本場の味をご家庭で
うなぎしら河の「ひつまぶし」
47 CLUB

国 アクセスランキング(直近1時間)

中日新聞 地方版記事

1【長野】御神楽(り)出現! 楽しい 5日…
2【経済】米新車販売17.3%増 トキ…
3【自動車産業ニュース】1月新車販売2…
4【三重】県立高入試、全日割は平均2…
5【滋賀】まきさんへの感染防止 鳥インフ…

お知らせ

▶ 本社採用 2012年卒の会社説明会を開催
▶ 新入学を祝うよい子のつどい 開催案内
▶ 五木寛之 親密激動篇 好評連載中

日本経済新聞 2月3日 木曜日 English

Web刊 ビジネスリーダー マネー テクノロジー ライフ スポーツ 朝刊・夕刊 My日経

トップ ニュース 特集 連載・コラム ランキング調査 社説・書評 more ▼

トップ > ニュース > 記事

習慣流産特有の塩基配列を発見 藤田保健大

2011/2/2 11:55

小 中 大 印刷

流産を繰り返す女性に特徴的な遺伝子の塩基配列を突き止めた、藤田保健衛生大(愛知県豊明市)の倉橋浩樹教授(分子遺伝学)らが2日までに発表した。英医学誌モレキュラー・ヒューマン・リプロダクション電子版に近く掲載される。

流産を3回以上繰り返す「習慣流産」は約6割が原因不明だが、倉橋教授は「事前の遺伝子検査で流産を防ぐ新たな治療法につながるかもしれない」と話した。

「アネキシンA5遺伝子」が産出するタンパク質が、胎児と母胎をつなぐ胎盤で血液が凝固するのを防ぐことは分かっていた。

倉橋教授らは正常な妊婦と原因不明の習慣流産の患者で、この遺伝子の塩基配列を比較し、患者に特徴的な型があることを発見した。産出するタンパク質が少ないため、胎盤の血液が凝固し、胎児の発育が阻害されているとみられるという。

小 中 大 印刷

関連キーワード 倉橋浩樹、習慣流産、塩基配列、藤田保健衛生大、分子遺伝学、アネキシン、流産

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Miyamura H, Nishizawa H, Ota S, Suzuki M, Inagaki A, Egusa H, Nishiyama S, Kato T, Pryor-Loishi K, Nakanishi I, Fujita T, Ymayoshi Y, Markoff A, <u>Yanagihara I</u> , Udagawa Y, Kurahashi H.	Polymorphism in <i>annexin A5</i> gene promoter in Japanese women with recurrent pregnancy loss.	Molecular Human Reproduction.			in press
Nozaki M, Wakae K, Tamaki N, Sakamoto S, Ohnishi K, Uejima T, Minato N, <u>Yanagihara I*</u> , Agata Y.	Regulation of T cell receptor V γ 2 gene rearrangement by the Helix-Loop-Helix protein, E2A.	International Immunology			in press
Ohnishi K, Nakahira K, Unzai S, Mayanagi K, Hashimoto H, Honda T, <u>Yanagihara I*</u>	Relationship between heat-induced fibrillogenicity and hemolytic activity of thermostable direct hemolysin and a related hemolysin of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .	FEMS Microbiology letters			in press
<u>Yanagihara I*</u> , Nakahira K, Yamane T, Kaieda S, Mayanagi K, Hamada D, Fukui T, Ohnishi K, Kajiyama S, Shimizu T, Sato M, Ikegami T, Ikeguchi M, Honda T, Hashimoto H.	Structure and functional characterization of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> thermostable direct hemolysin.	The Journal of Biological Chemistry	285(21)	pp16267-74	2010
Nishihara M, Sonoda M, Matsunami K, Yanagihara K, Yonemoto N, Ida S, Namba F, Shimomura I, <u>Yanagihara I*</u> , Waguri M.	Birth length is a predictor of adiponectin levels in Japanese young children.	Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism	23	pp913-920	2010

Nishihara M, Yamada M, Nozaki M, Nakahira K, <u>Yanagihara I*</u> .	Transcriptional regulation of the human <i>establishment of cohesion 1 homolog 2</i> gene.	Biochemical and Biophysical Research Communications	393(1)	pp111-7	2010
Namba F, Hasegawa T, Nakayama M, Hamanaka T, Yamashita T, Nakahira K, Kimoto A, Nozaki M, Nishihara M, Mimura K, Yamada M, Kitajima H, Suehara N, <u>Yanagihara I*</u> .	Placental features of chorioamnionitis colonized with <i>Ureaplasma</i> species in preterm delivery.	Pediatric Research	67(2)	pp166-72	2010
Hamada D, Hamaguchi M, Suzuki KN, Sakata I, <u>Yanagihara I.</u>	Cytoskeleton-modulating effectors of enteropathogenic and enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> : a case for EspB as an intrinsically less-ordered effector.	The FEBS Journal	277(11)	pp2409-15	2010
<u>Mimura K</u> , Tomimatsu T, Sharentuya N, Tskitishvili E, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T	Nicotine restores endothelial dysfunction caused by excess sFlt1 and sEng in an in vitro model of preeclamptic vascular endothelium: a possible therapeutic role of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) agonists for preeclampsia.	The American Journal of Obstetrics and Gynecology	202(5)	pp464.e1-6	2010
Kinugasa-Taniguchi Y, Tomimatsu T, <u>Mimura K</u> , Kanagawa T, Shimoya K, Murata Y, Kimura T.	Human C-reactive protein enhances vulnerability of immature rats to hypoxic-ischemic brain damage: a preliminary study.	Reproductive Sciences	17(5)	pp419-25	2010
Sharentuya N, Tomimatsu T, <u>Mimura K</u> , Tskitishvili E, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T	Nicotine suppresses interleukin-6 production from vascular endothelial cells: a possible therapeutic role of nicotine for preeclampsia.	Reproductive Sciences	17(6)	pp556-63	2010

Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K , Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K.	Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells.	Molecular Human Reproduction	16(3)	pp188-99	2010
橋本博、山根努、池口満徳、中平久美子、 柳原格 .	「腸炎ビブリオが産生する耐熱性溶血毒TDHの構造と機能」	日本結晶学会誌	52	pp285-9	2010
中山聡一郎、中山雅弘、 味村和哉、光田信明 .	「妊娠高血圧症候群の病態解明—分子機構を中心に—胎盤からみた妊娠高血圧症候群」.	産婦人科の実際	59	1005-1011	2010

分担研究報告 30

分担課題: 流産のエピジェネティックな異常の解析

研究分担者 秦健一郎 国立成育医療センター研究所周産期病態研究部 部長

研究要旨

DNA メチル化やヒストンのメチル化をはじめとするエピジェネティックな遺伝子発現制御は、哺乳類の発生と生存に必須の機構である。エピジェネティックな異常は、一見遺伝子変異に伴う異常と類似しているにもかかわらず、従来の遺伝学的解析では同定することができない。ゲノムインプリンティングは、DNA メチル化によって制御される代表的エピジェネティックな生命現象であるが、インプリンティングが破綻すると、ヒトでもマウスでも、胎盤形成異常を伴った胎児発生発育異常が観察される。これらの状況証拠から、DNA メチル化による遺伝子発現制御は、初期の絨毛発生分化に特別な役割を担っていると推測されている。

流産には、明らかな成因が同定できない症例が多数含まれており、およそ半数は正常核型とされている。これらの症例には、未知の微細な染色体異常あるいはエピジェネティックな異常が含まれていると考えられるが、系統的な解析は行われていない。

本分担研究計画では、異なる染色体上に散在し、様々な機構によって DNA メチル化されることが示されている領域(既知のインプリンティング遺伝子関連メチル化領域全て、反復配列、X 染色体、胎盤特異的非メチル化遺伝子領域を含む合計 32 箇所を標的に、定量的かつ半網羅的なメチル化解析法を確立した。

現在までに合計流産症例 59 例の DNA メチル化スクリーニングを行い、7 症例で DNA メチル化異常候補領域を同定した。今後は、検出された DNA メチル化異常候補領域の詳細な解析を行い、発症機序の推定を含めた流産発症との関連を検証する。多領域の厳密な定量解析は、現在まで本研究の他に報告が無く、病態と直結した DNA メチル化異常を同定し、診断への応用へと結びつけるにとどまらず、DNA メチル化異常の成立機序(成立時期や作用因子)を同定するためのより詳細な情報が得られ、今後の予防法や安全性確保の指針に有用な知見をもたらす事が期待される。

A. 研究目的

ヒトゲノムシーケンスプロジェクトの完了により、ほぼ全ての遺伝子配列が明らかになり、遺伝学的な異常を同定する技術(ジェネティックな異常の解析技術)が飛躍的に進歩した。一方で、遺伝子配列の異常(ジェネティックな異常)だけでは説明できない疾患の存在も明らかになった。

DNA メチル化をはじめとするエピジェネティックな遺伝子発現制御機構は、記念特に疾患や発生異常との因果関係が明らかにされてきており、従来の解析手法(ジェネティックな解析手法)を超えたポストゲノムシーケンス時代の重要な医学研

究領域として注目が高まっている。

特にエピジェネティックな生命現象の一つであるゲノムインプリンティングの破綻は、ヒトの発生異常と密接な関わりを持つことが知られている。いくつかのヒト先天性奇形症候群では、ゲノムインプリンティングの破綻がその原因であることが知られている。また、モデル生物の詳細な解析から、エピジェネティックな異常やゲノムインプリンティングの破綻は、胎盤の発生分化異常を引き起こすことが示された。さらに最近、生殖補助医療後の出生児で、インプリンティング異常症が高頻度に発生する可能性が示唆された。しかし、流産に

おけるエピジェネティックな異常は系統的網羅的に解析されておらず、そもそもヒト正常発生を参考とした正常値も定義されるに至っていない。

一方で、流産症例を細胞遺伝学的に解析した報告は多数存在するが、およそ半数の症例では明らかな染色体構造異常を認めない。本研究は、従来の解析技術では検出できないエピジェネティックな異常、特に絨毛の発生分化に深く関与しているインプリンティング遺伝子領域の DNA メチル化状態に注目し、1)ヒト絨毛組織の DNA メチル化状態を網羅的かつ定量的に解析する手法を独自に確立し、2)流産症例の DNA メチル化異常の有無を解析することで、流産の未知の病因病態を解明し、診断治療へと発展させる事を目的とする。

B. 研究方法

1. 解析標的領域の決定

現在までにヒトで報告されている DMR (Differentially Methylated Region: 父由来と母由来の対立遺伝子間で DNA メチル化の状態が異なり、片親性発現すなわちゲノムインプリンティング現象に必要な領域)全てを、文献的に検索した。また、ヒトでは報告されていないが、マウス DMR との配列相同性からヒトでも DMR であると予想される領域を決定し、これらが DMR である事を正常血液(リンパ球)および正常胎盤由来のゲノム DNA を用いて検証した。また、胎盤特異的な DNA メチル化を受ける領域、X 染色体上の DNA メチル化領域も併せ、合計 32 ヶ所を解析対象領域とした。

2. COBRA 条件検討

上記の領域を、COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis) 法により解析するための条件検討を行った。実際に解析を行う配列領域は、PCR 法による増幅の際に偏りが無く効率的な反応が起こるように、増幅産物長は約 500bp 以下になるよう設定した。また、増幅産物を特定の制限酵素で切断する必要があるため、領域内に適切な制限酵素認識配列を有する配列が存在する事も必須である。解析するゲノム DNA は、bisulfite 変換により非メチル化シトシンがウラシルに変換されるため、本来 4 種類の DNA で構成されるゲノム配列が、ほぼ 3 種類で構成される配列に変換される。このため、PCR の為のプライマー設計の自由度が格段に狭められると共に、特

異的な増幅を行う為には、徹底した事前の条件設定が必要である。一方で、解析をハイスループット化する為に、PCR の反応条件は可能な限り統一した。これらの条件を満たしつつ、非特異的増幅を起こさない PCR 条件を確立し、決定した。

3. 電気泳動

一般的に COBRA 法では、アガロースゲルやポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動を行い、得られる泳動像から半定量的な解析を行うが、我々の事前検討では、従来の解析法はダイナミックレンジが低く、定量性が劣る事が判明した。そこで我々は、測定値の定量性を厳密に担保するために、キャピラリー電気泳動法を採用した。

4. 倫理面への配慮

倫理面においてはヒトゲノム・遺伝子研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する指針を遵守する。また本研究内容は、報告者の所属する機関の倫理委員会の承認を受けている(国立成育医療センター倫理委員会承認番号 234)。

C. 研究結果

初年度は主に解析条件の検討を行い、初年度から本年度にかけて、正常検体(正常成人末梢血、正常絨毛組織)を用いた網羅的 DNA メチル化解析を行った。これらのデータから、末梢血リンパ球と正常絨毛組織における DNA メチル化状態正常値を定義した。

次年度は、初年度に確立した解析手法を用い、すでに収集されていた習慣流産 30 症例の解析を行った。最終年度は、本研究班分担研究者である名古屋市立大学産婦人科杉浦真弓教授のご協力により収集した流産 29 検体を解析した。以下の D. 考察と E. 結論の中で、結果の詳細も併せて述べる。

D. 考察

DNA メチル化を初めとするエピジェネティックなゲノム機能の制御は、発生と生存に必須の機構であると共に、様々な疾患との関連が指摘されている。我々は、特に胎盤(絨毛)の発生分化に関与することが知られている DNA メチル化領域(インプリンティング遺伝子の発現制御に関わる特殊な DNA メチル化領域)を網羅的に解析した。「B.

研究方法」の項でも触れたように、我々は、既に報告されているヒトの DMR を全て網羅すると共に、ヒトではまだ報告されていないが、マウス配列との相同性検索により、少なくとも4箇所の新規ヒト DMR を同定し、解析系に組み込んだ。同様の網羅的解析を行った報告は前例が無く、我々が独自に解析・定義した DNA メチル化状態の「正常値」を用い、習慣流産症例の解析を行った。昨年度も報告したように、この手法は、先天奇形症候群(これらの症例では、DNA メチル化異常を伴っている事が確認されている)を解析した例では、従来の定性的な解析法と矛盾の無い、正確な診断が可能であった。大変興味深い事に、今回我々が行った解析結果を元に、きわめてその正確性を検証済みである。またこの検証過程で、稀な発生異常である母ゲノムダイソミーモザイク症例と、父ゲノム代祖ミーモザイク症例を同定する事に成功した。すなわち、我々の分子診断系は、1)分子診断に実用可能であり、しかも、2)今まで見逃されていた未知の病態を同定できる。

これまでに行った合計 59 症例の解析からは、少なくとも 7 症例に、合計 20 箇所の DNA メチル化異常が同定された。そのうち遺伝的に独立した 2 症例では、*H19* 遺伝子と呼ばれる領域の DNA メチル化異常が認められた。*H19* 遺伝子の発現異常や DNA メチル化異常は、胎盤発生異常に関与することが動物実験等からも示されており、流産という症状との直接の因果関係が疑われる。その他の例では、異なる染色体上に存在する複数の領域で DNA メチル化異常が検出され、受精後に何らかの系統的な DNA メチル化維持の破綻が起こった事が推測される。

以上のように、これまでの解析結果から、1)一部の流産絨毛検体には DNA メチル化異常が確かに存在し、2)共通のエピジェネティックな病因もしくは病態を有する症例が存在する可能性が示唆された。3)また、複数領域を網羅的に解析することで、その発生起源や分子病態の推測が可能であることが期待された。

E. 結論

我々の DNA メチル化異常スクリーニング系は、分子診断法として実用性がある。また、網羅的なメチル化異常解析を行うことで、従来見逃されていた分子病態を同定することが可能である。流産絨毛組織合計 59 検体を用いた解析で、合計 7 症

例の DNA メチル化異常を同定した。これらの症例は、従来の解析手法ではいずれも「原因不明の習慣流産」であるが、我々の解析から異なる DNA メチル化状態の破綻を呈しており、各々の症例に固有の分子病態が存在することが示唆された。今後さらに多数の症例をスクリーニングすると共に、ビーズアレイによるゲノム全域約 27,000 箇所のプロモーター領域メチル化解析、個別領域の詳細な解析を併せて行い、未知の分子病態の解明を行う。

F. 健康危険情報 該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tomizawa SI, Kobayashi H, Watanabe T, Andrews S, Hata K, Kelsey G, Sasaki H. Development. Dynamic stage-specific changes in imprinted differentially methylated regions during early mammalian development and prevalence of non-CpG methylation in oocytes. 2011 Jan 19. [Epub ahead of print]
- 2) Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Masubara K, Hata K, Horikawa R, Ogata T. J Hum Genet. Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes. 2010 Nov 11. [Epub ahead of print]
- 3) Yamazawa K#, Nakabayashi K#, Kagami M, Sato T, Saitoh S, Horikawa R, Hizuka N, Ogata T. (2010) Parthenogenetic chimerism/mosaicism with a Silver-Russell Syndrome-like phenotype. J. Med. Genet. (in press) (#equal contribution)
- 4) 秦健一郎 (2010)「胎児発育とゲノムインプリンティング」HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY 17, 43-48.

2. 学会発表

- 1) 秦健一郎「生殖に関わるエピジェネティクスとその異常」教育講演、日本生殖医学会、徳島、11月12日、2010。(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomizawa SI, Kobayashi H, Watanabe T, Andrews S, <u>Hata K</u> , Kelsey G, Sasaki H.	Dynamic stage-specific changes in imprinted differentially methylated regions during early mammalian development and prevalence of non-CpG methylation in oocytes.	Development		in press	2010
Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Masubara K, <u>Hata K</u> , Horikawa R, Ogata T	Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes.	J Hum Genet.		in press	2010
<u>秦健一郎</u>	胎児発育とゲノムインプリンティング	HORMONE FRONTIER IN GY7NECOLOGY	17	43-48	2010

分担研究報告 31

分担課題: ナノマテリアルと流産

研究分担者 堤 康央 大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野 教授

研究要旨

種々ナノマテリアルを配合した数多くの化粧品・食品が製造・実用化(上市)されており、我々は既に意図的・非意図的な曝露を避け得ない。一方で、ナノマテリアル特有の物性に起因した革新的機能が、二面性を呈してしまい、予期しにくい毒性を発現してしまうことが世界的に危惧されており、早急な安全性評価とその確保が求められている。中でも、胎児は生体防御機構が未発達であるため、早産・流産・催奇形性など、予期せぬ重篤な障害を引き起こしかねないこと、過去の事例を鑑みると、ナノマテリアルの安全性評価を行うに際し、胎盤・胎児への移行性や胎盤機能に及ぼす影響、さらには、早産・流産・催奇形性誘発の可能性について精査することは最重要課題の一つと言える。以上の観点から本研究では、ナノマテリアルの安全性確保や安全なナノマテリアルの開発に資するリスク情報の集積を目的として、化粧品・食品の成分として既に上市されている非晶質ナノシリカを用い、母体・胎仔への影響に関するハザード評価を推進している。昨年度の検討において、過剰量を静脈内投与するハザード解析であるものの、粒子径 70 nm の非晶質シリカ(nSP70)が妊娠マウスに対して、流産や胎仔発育障害を誘発する可能性を明らかとした。そこで本年度は、ハザード発現における閾値の追求を目的に、nSP70 投与による投与量依存的な流産・胎仔発育障害の誘発頻度を検討し、興味深い知見を得た。今後は、ナノマテリアルの動態解析やヒトにおける疫学調査など曝露実態の解明によるリスク解析と、これらに基づくリスク評価を推進し、安全かつ有用なナノマテリアルの創出やナノマテリアルの安全確保等に資することを旨とするものである。

A. 研究目的

近年、産業利用を目的として開発・製造されるナノマテリアルおよびナノマテリアル利用製品の実用化が多様化・加速化している。しかし昨今、ナノマテリアル特有の物性に起因した革新的機能が、二面性を呈してしまい、予期しにくい毒性(ナノ毒性; NanoTox)を発現してしまうことが世界的に危惧されている。しかしナノマテリアルのリスク管理に必須となる安全性情報は、あまりにも乏しい。以上の観点から本研究では、ナノマテリアルの安全性確保・リスク管理に資する情報の集積を目的として、特に次世代影響(生殖発生毒性)に焦点を絞り、ナノマテリアルの母体・胎仔への影響に関するハザード評価を推進している。昨年度の検討において、過剰量を静脈内投与するハザード評価であるものの、粒子径 70 nm の非晶質シリカ(nSP70)が妊娠マウスに対し

て、流産や胎仔発育障害を誘発する可能性を明らかとした。そこで本年度は、ハザード発現における閾値の設定を目的に、nSP70 投与による投与量依存的な流産・胎仔発育障害の誘発頻度を検討した。

また当該分担研究においては、研究の重要性と緊急性を鑑み、厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業と別角度・別視点で研究を推進しつつ、情報交換を図るなど、連携しつつ、研究の効率化を図った。

B. 研究方法

1) ナノシリカ: Micromod 社より購入した表面未修飾の非晶質ナノシリカ(直径 70 nm; nSP70)を実験に供した。

2) ナノシリカの生殖発生毒性評価: nSP70 を妊娠 BALB/c マウスに 0.8、0.4、0.2 mg/mouse で妊娠

16、17 日目に 2 日間連続で尾静脈内投与した。シリカ最終投与 24 時間後に、子宮重量、吸収胎仔数、胎仔重量を測定した。

C. 研究結果

次項の考察にまとめて記載する。

D. 考察

昨年度の検討において、粒子径 70 nm、300 nm、1000 nm の非晶質シリカ (nSP70、nSP300、mSP1000) を静脈内に過剰量投与するハザード評価であるものの、妊娠マウスに投与することで、nSP70 投与群においてコントロール群と比較して有意な吸収痕が認められ、流産が誘発されることを明らかとした。さらに、nSP70 を投与したマウスから出生した胎仔は、コントロール群と比較して有意な体重低下が認められ、胎仔発育障害を誘発することを示した。そこで本検討では、ハザード発現における閾値の設定を目的に、nSP70 を妊娠マウスに対して、妊娠 16、17 日目に 2 日間連続で 0.8、0.4、0.2 mg/mouse で投与し、子宮重量、吸収胎仔数、胎仔重量を評価した。その結果、0.4、0.2 mg/mouse 投与群においては、0.8 mg/mouse 投与群で認められた子宮重量・胎仔重量の減少および吸収胎仔数の増加が全く観察されなかった。以上の結果から、今後より詳細な検討が必須であるものの、nSP70 の流産・胎仔発育不全誘発などハザード発現には閾値が存在することが判明した。

E. 結論

本研究では、化粧品・食品などに含有されているナノマテリアルの安全性確保や将来的なリスク管理、あるいは安全なナノマテリアルの創出に資する情報の集積を目的として、特に流産・胎仔発育不全への影響を追求した。その結果、体内に侵入した非晶質ナノシリカは、流産・胎仔発育不全などのハザードを発現し得ることや、そのハザード発現には閾値が存在する可能性など、重要な知見を得た。今後は、ナノマテリアルの動態解析やヒトにおける疫学調査など曝露実態の解明によるリスク評価を推進することで、安全かつ有用なナノマテリアルの創製に資する基盤情報を収集する必要があることが示唆された。本研究成果は、ナノマテリアルの安全性評価、特に生殖発生毒性評価の重要性を先駆け明らかとし、我が国の当該分野をリードする研究に発展している。また近未来的に環境省のエコチルプロジ

ェクトとの連携を視野に入れるなど、安全で豊かなナノマテリアルとの共存社会を目指した研究を推進している。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉川友章, 吉岡靖雄, 堤 康央: 非晶質ナノシリカの経皮吸収性/生体内動態と安全性との関連追求., ナノ材料のリスク評価と安全性対策, フロンティア出版, 44-53, 2010.
- 2) Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Yao X., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S. Cytotoxicity of amorphous silica particles against macrophage-like THP-1 cells depends on particle-size and surface properties. *Pharmazie*. 65(8):596-9, 2010.
- 3) Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells. *Pharmazie*. 65(3):199-201, 2010.
- 4) Higashisaka K., Yoshioka Y., Yamashita K., Morishita Y., Fujimura M., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Yoshikawa T., Itoh N., Tsutsumi Y. Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and toxicity of nanomaterials. *Biomaterials*. 32(1):3-9, 2010.
- 5) Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M., Yoshida T., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Monobe Y., Imazawa T., Aoshima H., Shishido K., Kawai Y., Mayumi T., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Yanagihara I., Saito S., Tsutsumi Y. : Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice., *Nature Nanotechnology*, in press.

2. 学会発表

- 1) 吉岡靖雄, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保を目指して. 第 80 回日本衛生学会学術総会, 仙台, 2010 年 5 月.
- 2) 堤 康央: 安全なナノマテリアルの開発支援に向けた NanoTox 研究への取組み. 平成 22 年度日本環境変異原学会公開シンポジウム, 東京, 2010 年 5 月.
- 3) 堤 康央: ナノテクノロジーを活用した医療、化粧品、食品の安全性と今後の課題. 第 42 回大阪大学中之島講座「いまを読み解く -医療・都市-」『先端医療とその課題』, 大阪, 2010 年 10 月.
- 4) 山下浩平, 吉岡靖雄, 東阪和馬, 森下裕貴, 吉田徳幸, 藤村真穂, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 今澤孝喜, 味村和哉, 柳原 格, 齋藤 滋, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 吉川友章, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保に向けて: 非晶質ナノシリカの生殖発生への影響に関する基礎評価. 第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会, 沖縄, 2010 年 6 月.
- 5) 山下浩平, 東阪和馬, 森下裕貴, 藤村真穂, 潘 慧燕, 小椋健正, 伊藤徳夫, 吉川友章, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保に向けて～非晶質ナノシリカの次世代への影響評価～. 第 9 回次世代を担う若手ファーマ・フォーラム 2010, 京都, 2010 年 10 月.
- 6) 山下浩平, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 安全性確保を目指したナノマテリアルの生殖発生影響評価. 日本薬学会 第 131 年会, 静岡, 2011 年 3 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当無し。
2. 実用新案登録
該当無し。
3. その他
該当無し。