

された一方で、生体においては従来のマイクロメートルサイズの方法と同様に皮膚・粘膜・血管壁などにある間隙を透過することができないと妄信されてきた。しかしながらナノ材料はこれら間隙を透過することができる可能性がにわかに指摘され始め、体内の特定の部位や組織への特異的集積性といった問題が懸念されるようになった。通常の多種多様な合成高分子が、数多の毒性試験を課され、医薬品にいたっては吸収・分散・代謝・排泄といった生体内の全挙動（いわゆるADME）がくまなく追跡されていることと比較して、ナノ材料の場合はこれが軽視されているのが現状である。ナノ化は体積に対して比表面積が増大するので、物理的・化学的な性質に加え生物学的性質もナノ化により決定的に変化してしまう可能性が高いことは明白である。

一般にバルクの酸化チタンやバルク銀は化学的には安定であり急性毒性はないとされているが、その粉末を扱う産業現場では塵肺の原因になる粉塵として扱われている。粉塵については経験的に特定のサイズの粒子に危険性があることが知られていたが、ナノ粒子については化学工業業界において「サイズの大きな粒子が安全な場合には、同じ物質で構成されたナノ粒子も安全であろう」とする仮定で製品化されてきたのが現状である。また既存の動物実験報告では、ナノ粒子の吸入暴露の危険性が指摘され、ナノ粒子を吸入させた場合にだけ炎症反応が生じたことが報告され、炎症惹起性には粒子サイズのみならず投与経路が影響する可能性も示唆されてきている。生体毒性においては、従来ならば血液脳関門によって物質の出入りが厳密に制御されていると考

えられてきた脳内へナノ粒子の脳内移行性の検討は喫緊の課題である。

今回我々は、静脈内ならびに腹腔内という2つの経路でナノ粒子を投与した際の脳内移行性を含む体内動態、粒子挙動とについて検証したマウス動物実験について報告する。

B:研究方法

(1) ナノ粒子投与実験

投与経路に拠る組織集積性について解析するために、C557BL/6Jマウスに蛍光ナノ粒子量子ドット(QD)を、尾静脈投与もしくは腹腔投与した。また投与する粒子の表面加工形態が異なる2種類のナノ蛍光粒子による分布挙動の際についても検討した。この実験のために、逆ミセル法によって合成した疎水性ナノ粒子(TOPO-QD)を常法に従い2種類の親水性の表面加工を施した。使用した表面被覆分子は、(2S)-1-[(2S)-2-methyl-3-sulfanylpropanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid(QD-cap)ならびにpolyglycine-polyethyleneglycol(QD-PEG)である。粒子の体内動態は、蛍光in vivoイメージングは、Realtime In Vivo MacroImaging System (Relyon社製)にて検出した。組織切片における観察はtwo-photon excitation system搭載共焦点レーザー顕微鏡にて行い、背景組織との蛍光差分を比較して粒子の存在を決定した。

(2) 中枢神経内に到達した粒子の定量的解析

臓器における粒子分布を検討する目的で、投与動物は脱血灌流する。目的臓器

を分離抽出後、誘導結合プラズママススペクトル法(島津 ICPM-8500)にて粒子カドミウムを微量検出した。カドミウム濃度の定量的検出は、脳においては 0-1.5 ppb、その他の臓器では 0-1000 ppb の金属カドミウム標準の校正に拠った。

C:研究結果

蛍光ナノ粒子を静脈内投与した場合には、その分布は表面加工により異なり、QD-cap 被覆体では主として肺に集積したほか、脾臓や腎臓への集積が認められた(図1)。組織切片では脾臓の赤脾髄への集積が認めら

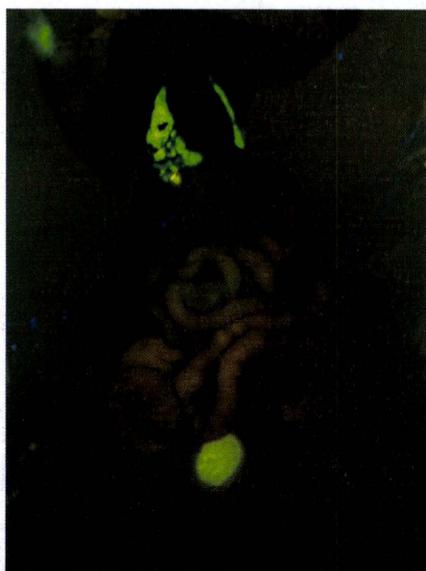


図1 QD-cap 被覆体における臓器分布の蛍光イメージング

投与4時間後には、肺に緑色蛍光の集積が確認される。

れたことから、主として組織マクロファージによる貪食である可能性が示唆されている。また QD-PEG 被覆体では主として肝臓に集積したほか、腎臓を介して尿中への排泄が確認されている(図2)。しかしながら両者に共通して、脳内への移行は観察され

なかった。

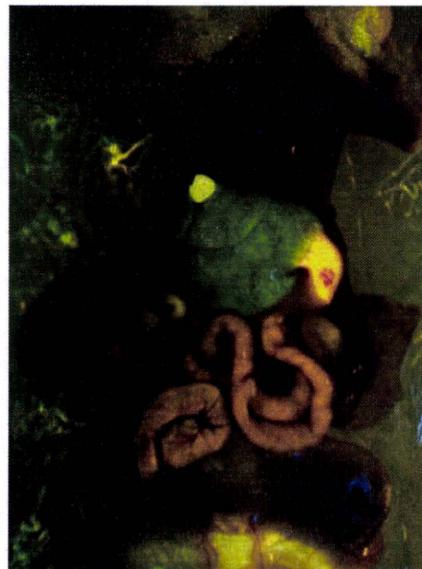


図2 QD-PEG 被覆体における臓器分布の蛍光イメージング

投与4時間後には、肝臓に緑色蛍光の集積が確認される。

一方、蛍光ナノ粒子を腹腔内投与した場合には、その分布は表面加工によらないことが判明した。

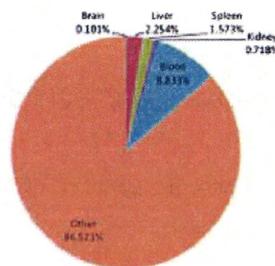


図3 静脈内投与6時間後における臓器内粒子分布

血液中に8.8%、肝臓に2.3%、脾臓中に1.6%程度、ナノ粒子の集積が確認される。

ナノ粒子投与6時間後の体内分布は、血液内滞留が最も多くおよそ9%を占めて

いた。次いで浸潤の大きい臓器は肝臓、脾臓、腎臓、脳の順であった(図3)。脳への集積は投与量全体の0.1%程度であった。

脳内におけるナノ粒子の分布を図4に示す。脳内においては、視床への集積が最も高く、次いで脳幹部、大脳皮質の順になっている。少量ながら海馬や小脳、嗅球内への分布も確認されている。

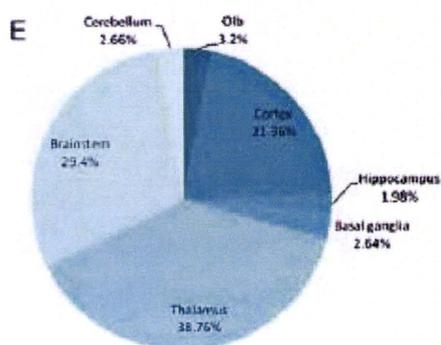


図4 静脈内投与6時間後における脳内粒子分布

脳内では視床、脳幹、大脳皮質などにナノ粒子の集積が確認される。

一方、脳内各部位の乾燥重量あたりにおける粒子顔料を測定し比較すると、ナノ粒子の集積は、視床、脳幹部について嗅球への集積が顕著であることが判明した(図5)。

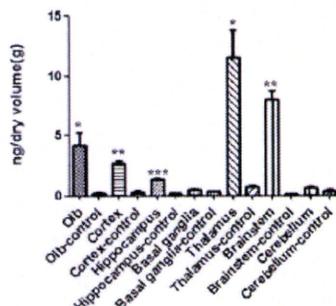


図5 脳乾燥重量当たりナノ粒子含有量
乾燥重量当りでは視床、脳幹、嗅球に集積が多い。

続いて、脳組織内における分布を組織切片により病理学的に検討した。ラミニンとの二重染色により、少なくとも脳内では脳血管ではなく組織内へと浸潤していることが確認された。

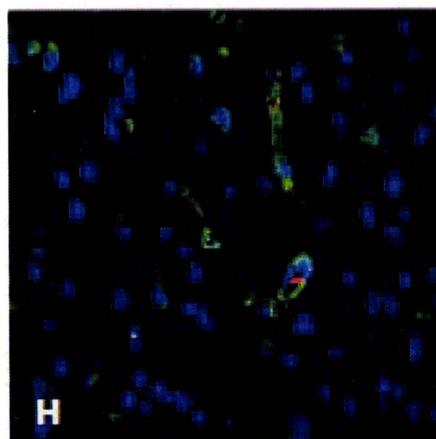
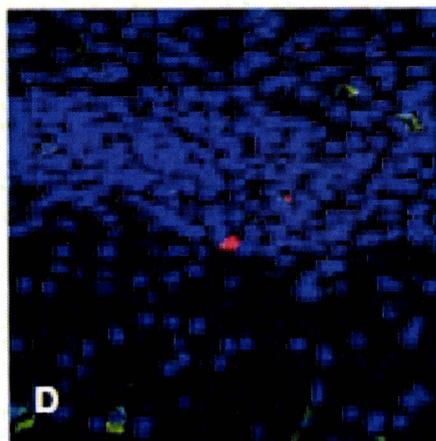


図6 ナノ粒子の脳組織内における分布。

脳の組織切片を抗ラミニン抗体を用いて免疫染色(緑色)した。青色は核、赤色は浸潤した蛍光ナノ粒子を示す。上段は嗅球、下段は大脳皮質。

具体的には、海馬や脳幹部においては血管辺縁部に集積していた。また、大脳皮質や視床、嗅球においては集積は主として脳実質組織部位であることが判明した

(図 6)。なお、ナノ粒子投与の影響による具体的な脳細胞の障害性の有無についてあるいは行動異常など神経機能に対する影響は、この実験の範囲では明確には確認されなかった。

D:考察

(1) 達成度について

ナノ粒子は、同一の物質でありながら超微小化によって物理的・化学的性質が飛躍的に変化することが知られていた。また生物学的性質についても、*in vitro* 実験において粒子径や表面加工の差異によりその特性が変化することが示唆されていた。本研究では、マウス体内への投与によりナノ粒子が脳内へ移行することが確認された。また表面加工の違いにより体内分布が異なること、投与経路の違いにより脳内への移行の有無が変化することをそれぞれ確認した。この成果は 2010 年に *Nanotechnology* 誌に掲載(Kato S. *et al.*, 2010 Aug 20; 21(33): 335103)された。ナノ粒子の脳内移行の有無については世界的に報告がなされておらず、毒性学上の新規発見を論文として発表することができ、研究の達成度は高い。

(2) 成果の学術的・国際的・社会的意義について

従来から、既存物質について微小化に伴い毒性や生体内挙動といった生物学的反応性が変化することが懸念されていた。とりわけ、従来ならば血液脳関門によって物質の出入りが厳密に制御されていると考えられてきた脳内ナノ粒子の脳内移行が実際に起きていることが確認されたことの社会的意義は大きい。脳内への移

行と脳組織内への分布は、投与経路が腹腔内注入したときに限られているという現象は、今後ナノ粒子の生体内挙動や毒性の発現を検討する上で非常に大きな判断材料となりうる。また生体内分析において誘導結合プラズママスマスペクトル法が高感度に粒子を検出可能な技術として使用可能であることが実証されたことも大きな進歩といえる。

(3) 今後の展望

本年度の成果は、ナノ粒子を静脈内へ直接投与した際には脳内への移行が確認されていないことから、腹腔と中枢神経系を連絡するなんらかのシステムの存在を仄めかす結果であることから、これら経路に関する詳細な解析が望まれる。

今後はナノ粒子の化学物質リスクという観点から、マウスにおける中枢神経系の毒性、障害性あるいは脳の発達に及ぼす影響について、詳細な研究が遂行されることを期待している。

E:結論

本年度は、静脈内ならびに腹腔内という 2 つの経路でナノ粒子を投与し、その生体内挙動を比較検証した。腹腔内よりナノ粒子を投与されたマウスでは静脈内投与とは異なり、ナノ粒子が脳実質組織内へと移行することを確認した。

ナノ粒子の生体への影響を検討する上において、投与経路・暴露部位が正確なナノ粒子の暴露リスクを評価するために重要な要因のひとつであることを証明した。

F:健康危機情報

現在のところなし。

G:研究発表

1. 論文発表

1. Kato S, Itoh K, Yaoi T, Tozawa T, Yoshikawa Y, Yasui H, Kanamura N, Hoshino A, Manabe N, Yamamoto K, Fushiki S. "Organ distribution of quantum dots after intraperitoneal administration, with special reference to area-specific distribution in the brain." *Nanotechnology*. 2010 Aug 20; 21(33): 335103.
2. Yamamoto K. "The Exposure of nanoparticles for Human Body." *J. Soc. Powder Technol. Jpn.* 2011;48(1): 34-38.
3. Hoshino A, Hanada S, Yamamoto K "Toxicity of nanocrystal quantum dots: The relevance of surface modifications" *Arch. Toxicol.* 2011, *in press*

2. 学会発表

1. Hanada S, Miyaoi K, Hoshino A, Yamamoto K. "Size- and structure-dependent toxicity of silica particulates." *Bios meeting, SPIE Photonic West*. Jan 22, 2011. San Francisco, CA, USA.
2. Fujioka K, Hanada S, Hoshino A, Yamamoto K, Hirakuri K, Sato K, Shiohara A, Tilley RD, Manome Y, Kanaya F. "Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles" *NanoSafe 2010*. Nov 18, 2010. Grenoble, France.
3. Fushiki S, Itoh K, Kato S, Yaoi T, Umekage M, Tozawa T, Yoshikawa Y,

Yasui H, Hoshino A, Manabe N, Yamamoto K. "Distribution of quantum dots after intraperitoneal administration, with reference to area-specific distribution in the brain" (Invited Paper) *Bios meeting, SPIE Photonic West*. Jan 24, 2011. San Francisco, CA, USA.

3. その他の業績 書籍等

H:知的所有権の出願・取得状況（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

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）分担研究報告書

中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響に関する試験法の開発
(H22-化学-若手-009)

新規試験法の有用性の検証、国際的な基準策定への働きかけ
Examining efficacy of novel testing methods and reaching out
in establishing international guidelines

分担研究者

Fumihide Kanaya^{*1), 2)}, Sanshiro Hanada²⁾, Akiyoshi Hoshino²⁾ and Kouki Fujioka³⁾

Abstract

This group proposes a model for a Japanese network to become a part of international attempts in standardizing nano-toxicology guidelines in various regions of the world. It received special interests in the benefit of its novel approach actively regulating toxicity by surface modification. The study takes its informatics lessons learned and facilitation abroad into its second year of the study.

A: Purpose

Although there have been various efforts in establishing new systemic monitoring and regulatory frameworks for nanotoxicology throughout different regions of the world, Japanese nano-toxicity testing research has revolved around for the sake of how to detect higher toxicity

level out of the same source material and showed delays in international participation in those movements. This study group initiates a multiyear participatory research attempt in reaching out to oversea networks and having them involved in integration of new detection techniques to create realistic, comparable exposure – hazard standards that make sense for international nanoparticle development and manufacturing community.

B: Methods

1. Dissemination of our latest various toxicity testing outcomes into internationally comparable format.
2. Taking our approaches to

*Research Fellow at:

- 1) AIDS Clinical Center, National Center for Global Health and Medicine (NCGM)
- 2) Research Institute, NCGM
- 3) Institute of DNA Medicine, Jikei University School of Medicine

international forums, engaging in proposal facilitation for feasibility investigation to integrate our novel methods into different networks.

3. Utilizing several international feedbacks as result, bringing the new network into a higher level consortium.

(Ethical Consideration)

Because there has not been a human subject research phase in this study group's toxicity testing yet, we have not set human subject ethics measures specifically for this study although we continue to stay alert and mindful on the universal ethical nature of the study procedures.

C: Results

1. S. Hanada disseminated the outcomes of silicon quantum dots from our group. It consisted of its fluorescence, gene delivery system, safety over heavy-metal derivatives, gas- and liquid-phase methods, WST and LDH assays, Luminol and liquid peroxide assays, radical chain reaction model, surface dependent mitochondrial activities, oxy-radical generation and anti oxidant Si-Dots with aminoprofen.
2. F. Kanaya brought an oral presentation to Nanosafe 2010 in Grenoble, France on November 18th. Fine tuned the disseminated outcomes and tweaked out effective discussion points that should

endure international investigation. Researched and approached different networks of scholars from a) academia b) industrial medicine and c) nano-industry that were developing own toxicity testing standard in each region of world. That included CEA France (M. Carriere), NIOSH CHN (M. Ellenbecker), Nano-EHS (G. Oberdorster), EMPA Swiss (JP Kaiser), KUL BE (P. Hoet), NanoImpactNet (M. Riedliker) and TITNT (C. Emond).

3. As result, NSF-funded Center for High Rate Nanomanufacturing (CHN), The International Team in NanosafeTy and NanoImpactNet gave integral feedbacks for the next phase of the study and invited this group back to their meetings in the next year. K. Fujioka submitted and got accepted for his peer-reviewed proceeding as result and attended the NanoImpactNet meeting at Lausanne, Switzerland in February 2011.

D: Discussion

Through the active participation in international community of environmental, health and safety of nanomedical research (Nano-EHS), the group learned valuable lessons:

1. Universal standardized guidelines for evaluation and assessment of Nanomaterial toxicology is in its

starting phase and there has not been much effective networking effort out of Japan other than independent toxicology evidences.

2. We found it a very effective way to tweak and fine tune our results for international discussion to make case and have our presence well-known. As result in this process, we learned our toxicity regulating surface modification methods and results especially received and won very effective argument.
3. International community wants validation of *in vitro* results by *in vivo* studies; an internationally coordinated informatics system would enable realistic analysis of dose-response data for the nano-medical toxicity meta-analysis.

E: Conclusion

The current international trend we found this year in academic, medical and industry interests is realistic Exposure – Hazard relationship, especially low level exposures. Informatics of nanomaterial related Adverse Health Effect would be the next phase of this development and this group should participate in this international movement during the second year of this study.

F: Health Safety Information

Not applicable this year.

G: Publications and presentations

1. Publication

1 Fujikoka K, Hanada S, Kanaya F, Hoshino A, Hirakuri K, Sato K, Shiohara A, Tilley RD, Manome Y. “Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles.” *Journal of Physics Conference Series 2011, in press*

2. Conference Presentation

1 Fujikoka K, Hanada S, Hoshino A, Hirakuri K, Sato K, Shiohara A, Tilley RD, Manome Y, Kanaya F. “Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles.” *Nanosafe 2010*, November 18, 2010. Grenoble, France.

3. Others

Not applicable

H:知的所有権の出願・取得状況（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



Ⅲ. 班會議資料一覽

平成22年度
厚生労働省科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響に関する
試験法の開発に関する研究

第一回班会議

1. 日時：平成22年7月20日（火）15時～17時
 2. 場所：東京慈恵会医科大学・DNA医学研究所・11階ミーティングルーム
 3. 目的：これまでの研究内容についての発表と、試験法の開発に向けた本年度、並びに3年間の事業計画について確認を行う。
 4. 分担研究者・協力研究者による発表プログラム
- 15:00～15:15 : 東京慈恵会医科大学・分子細胞生物学研究部 助教 藤岡宏樹
- 15:15～15:30 : 東京慈恵会医科大学・共用研究施設 施設長 馬目佳信
- 15:30～15:45 : 東京慈恵会医科大学・医用エンジニアリング研究室
ポストドクトラルフェロー 星野昭芳
- 15:45～16:00 : 討論
- 16:00～16:15 : 国立国際医療研究センター・山本副所長室 流動研究員 花田三四郎
- 16:15～16:30 : 東邦大学・医学部・解剖学生体構造学分野 助教 井上由理子
- 16:30～17:00 : 今後の計画について

以上

自己紹介書

1. 所属 東京慈恵会医科大学・DNA 医学研究所・分子細胞生物学研究部

2. 氏名 藤岡宏樹 (ふじおか こうき)

3. これまでの研究内容

ナノ粒子の医療応用研究に携わり、より安全な医療用ナノ粒子の開発、細胞を使ったナノ粒子の安全性試験を行ってきた。

安全なナノ粒子開発においては、ヴィクトリア大学ウェリントン校において、室温におけるナノ粒子の合成法を学び、日本の企業・研究施設にその技術を導入した。

細胞を使った安全性試験においては、種々のナノ粒子について検討を行い、特に安全な材質から作製されたシリコン粒子からも微弱なラジカルが発生し、多量に使用された場合には対策が必要であることを世界に先駆けて明らかにしている。

本研究では、化学物質の安全、特に脳へのナノ粒子の影響を簡便に測定する方法を開発する。現在までに、神経幹細胞を使った試験からは、多量のナノ粒子との共培養によって分化に影響を与える可能性が示唆されている。このため、脳血液関門の透過性、実生活において影響が出てくる濃度の把握、及び神経機能への影響を詳細に調査する必要がある。これらの研究に貢献する技術として、脳スライス培養法を中心とした簡便な測定法を開発し、我が国におけるナノ粒子の安全対策に大きく貢献したい。

4. 最近の主な研究業績

1. Fujioka, K., Manabe, N., Nomura, M., Watanabe, M., Takeyama, H., Hoshino, A., Hanada, S., Yamamoto, K., and Manome, Y. "Detection of thyroid carcinoma antigen with Quantum dots and monoclonal IgM antibody (JT-95) systems" *J. Nanomater.* 2010, 937684 (2010)
2. Fujioka, K., Hiruoka, M., Sato, K., Manabe, N., Miyasaka, R., Hanada, S., Hoshino, A., Tilley, R. D., Manome, Y., Hirakuri, K. and Yamamoto, K. "Luminescent passive-oxidized silicon quantum dots as biological staining labels and their cytotoxicity effects at high concentration." *Nanotechnology* 19(41): 415102. (2008).
3. Shiohara, A., Hanada, S., Prabakar, S., Fujioka, K., Lim, T., Yamamoto, K., Northcote, P., Tilley, R. "Chemical reactions on surface molecules attached to silicon quantum dots" *J. Am. Chem. Soc.*, 132 (1): 248–253 (2010)
4. Prabakar, S., Shiohara, A., Hanada, S., Fujioka, K., Yamamoto, K., Tilley, R. "Size Controlled Synthesis of Germanium Nanocrystals with Hydride Reducing Agents and their Biological Applications" *Chem. Mater.*, 22, 482-486. (2010)

自己紹介書

1. 所属 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 共用研究施設

2. 氏名 馬目佳信

3. 研究内容

脳腫瘍、特にグリオーマの治療について、モノクローナル抗体の作成によるミサイル療法や抗癌剤ドラッグデリバリーシステム、局所化学療法、遺伝子導入による遺伝子治療、音響エネルギーによる音響力学療法などの開発をこれまでに行ってきた。この過程の中で、各種治療法の中樞神経系細胞に対する安全性についても評価を行っている。中樞神経系は人間を人間たらしめている精神活動の中樞であり、一度損傷すると臨床的には再生させることが難しい臓器である。安全性の評価法として遺伝子の発現などの変化を見る生化学的アプローチと組織のアポトーシスなどに代表される形態学的アプローチの両面からの検討が必要である。前者として脳圧亢進時のような静水圧負荷が神経のモデル細胞で RGS5 の転写を促進することを同定し、他 9 個の EST の発現が変化することなどを示した。後者では音響エネルギーである超音波による治療で有効な超音波強度 (490kHz, 0.3W/cm² for 60 min) が生体の神経細胞に安全であることをスライス培養と電子顕微鏡を用いて測定した。またこの方法で超音波が細胞膜を穿孔し、中樞神経系細胞に遺伝子の導入ができる条件 (210.4kHz, 5.0W/cm² for 5sec, 5.23 fold increase) などを見出した。本研究ではナノ材料の評価系としてナノ粒子の局在や中樞神経系細胞に対する影響の評価法確立を目指す。

4. 代表的な研究業績 (論文等)

Manome Y, Mizuno S, Akiyama N, Fujioka K, Saito H, Hataba Y, Kobayashi T, Watanabe M. Three-dimensional cell culture of glioma and morphological comparison of four different human cell lines. *Anticancer Research*. 30:383-390, 2010.

Manome Y, Furuhashi H, Hashimoto A, Funamizu N, Suzuki R, Ishizawa S, Akiyama N, Kobayashi T, Watanabe M. Application of Therapeutic Insonation to Malignant Glioma Cells and Facilitation by Echo-contrast Microbubbles of Levovist. *Anticancer Research* 29: 235-242, 2009

など。またスライス培養を用いたものとして、

Manome Y, Kobayashi T, Mori M, Suzuki R, Funamizu N, Akiyama N, Inoue S, Tabata Y, Watanabe M. Local delivery of doxorubicin for malignant glioma by a biodegradable PLGA polymer sheet. *Anticancer Research*. 26:3317-3326, 2006.

Yoshinaga H, Watanabe M, Manome Y. Possible role of nicaraven in neuroprotective effect on hippocampal slice culture. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 81: 683-689, 2003.

などがある。

組織マクロファージと担当ケモカイン

星野昭芳^{1,2}

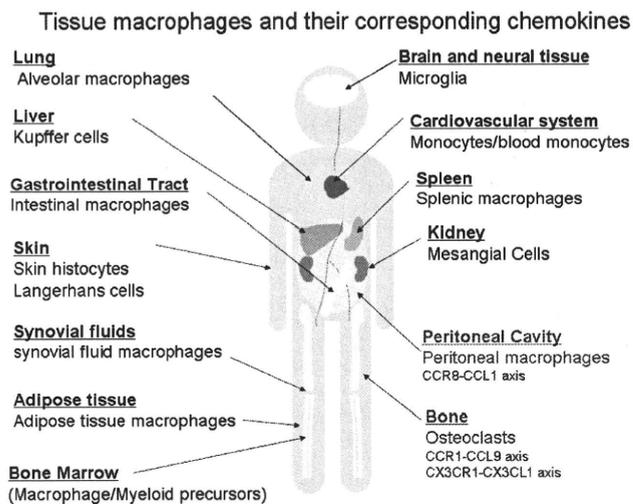
1. (独) 国立国際医療研究センター 研究所 山本副所長室
2. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 分子細胞生物学研究部

これまでの研究内容

マクロファージは機能的に食食によって特徴づけられ、生体内では他の細胞にはない活発な食食能を専門とした細胞群である。マクロファージ物質を取り込み、ライソゾームによって消化・分解を行い、あるいは消化できない物を蓄積する。同時にマクロファージはサイトカインをはじめとする多岐にわたる生物活性物質を産生・分泌し、マクロファージ以外の種々の細胞に作用する一方、マクロファージ以外の細胞から産生・分泌された物質によっても活性化され、あるいは制御を受けている。こういった他種細胞との相互作用、とりわけリンパ球や樹状細胞との緊密なネットワークは、免疫機構上多面的な役割を担っている。こういった他細胞種との相互作用は炎症や病的状態には免疫的な作用をする。

その一方で、マクロファージはヒトを含む哺乳類など高等動物では生体各所の諸臓器・組織に分布し、生

体防衛機構に重要な役割を演ずるのみならず局所の臓器・組織に密接に関連し、それぞれの組織で固有の機能、つまり組織の発生・分化・改築・成長・老化など種々の生命現象や生理代謝構に参画していると考えられる。これらマクロファージは胎生早期から発生し、組織に分布し、それぞれの組織で胎生期の組織の分化、改変に関与していることが示唆されているが、その詳細な機能については不明な点が多い。本研究では、免疫細胞の遊走に関するサイトカインであるケモカイン群が、組織特異的マクロファージの維持に関与しているという仮説に基づき、全身の組織特異的マクロファージのケモ



カイン/ケモカイン受容体発現について検討している。

代表的な研究業績

- 1) Hoshino A, Kawamura YI, Yasuhara M, Toyama-Sorimachi N, Yamamoto K, Matsukawa A, Lira SA, Dohi T. "Inhibition of CCL1-CCR8 Interaction Prevents Aggregation of Macrophages and Development of Peritoneal Adhesions" *J. Immunol.* 2007 Apr 15; 178(8):5296-5304.
- 2) Hoshino A, Nagao T, Nagi-Muira N, Ohno N, Yasuhara M, Yamamoto K, Nakayama T, Suzuki K. "MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils in vitro via classical complement pathway-dependent manner." *J. Autoimmun.* 2008; 31(1):79-89.
- 3) Hoshino A, Iimura T, Ueha S, Hanada S, Maruoka Y, Mayahara M, Suzuki K, Imai T, Ito M, Manome Y, Kirino T, Yamaguchi A, Matsushima K, Yamamoto K. "Deficiency of chemokine receptor CCR1 causes osteopenia due to impaired functions of osteoclasts and osteoblasts." *J. Biol. Chem.* 2010; *in press*, e-pub ahead of print; June 22, 2010 as doi:10.1074/jbc.M109.099424.

自己紹介書

1. 所属：独立行政法人 国立国際医療研究センター 研究所
2. 氏名：花田 三四郎
3. これまでの研究内容：

東京大学工学部化学システム工学科にて、山口由岐夫先生の指導のもとで量子ドットの光電変換特性に関する研究に従事。修士課程および博士課程では、東京大学生産技術研究所および医学系研究科疾患生命工学センター酒井康行先生の指導のもと、胎児肝細胞を用いた小型灌流培養および肝前駆細胞の生体組織工学的三次元培養による成熟化と移植に関する研究を行い、2008年3月に同大学院科学システム工学専攻博士課程を修了。学位取得（博士（工学））。

現在は、国立国際医療研究センター副所長室の流動研究員として、シリコン系ナノ微粒子の安全性評価と医療につながる応用の開発等に従事しております。

4. 代表的な研究業績（論文等）：

○論文

- 1) Hamon M, Hanada S, Fujii T, Sakai Y. "Direct Oxygen Supply with Polydimethylsiloxane (PDMS) Membranes Induces a Spontaneous Organization of Thick Heterogeneous Liver Tissues from Rat Fetal Liver Cells in Vitro" Cell Transplantation, in press.
- 2) Shiohara A, Hanada S, Prabakar S, Fujioka K, Lim T, Yamamoto K, Northcote P, Tilley RD. "Chemical Reactions On Surface Molecules Attached to Silicon Quantum Dots" Journal of American Chemical Society. 2010 Jan 13;132(1):248-253.
- 3) Hoshino A, Hanada S, Manabe N, Nakayama T, Yamamoto K. "Immune Response Induced by Fluorescent Nanocrystal Quantum Dots in vitro and in vivo" IEEE Transactions on NanoBioscience . 2009; Mar;8(1):51-57.
- 4) Hanada S, Kojima N, Sakai Y. "Soluble Factor-Dependent in vitro Growth and Maturation of Rat Fetal Liver Cells in a Three-Dimensional Culture System" Tissue Engineering, partA, 14, 149-160 (2008).
- 5) Huang H, Hanada S, Kojima N, Sakai Y. "Enhanced Functional Maturation of Fetal Porcine Hepatocytes in Three-dimensional Poly-L-lactic Acid Scaffolds: A Culture Condition Suitable for Engineered Liver Tissues in Large-Scale Animal Studies" Cell Transplantation, 15(8-9), 799-809 (2006).
- 6) Hanada S, Kayano H, Jiang J, Kojima N, Miyajima A, Sakoda A, Sakai Y. "Enhanced in vitro maturation of subcultivated fetal human hepatocytes in three dimensional culture using poly-L-lactic acid scaffolds in the presence of oncostatin M" International Journal of Artificial Organs, 26(10), 943-951 (2003).

○著書

Y. Sakai, J. Jiang, S. Hanada, H. Huang, T. Katsuda, N. Kojima, T. Teratani, and T. Ochiya. "Three-dimensional Culture of Fetal Mouse, Rat and Porcine Hepatocytes" Fetal Tissue Transplantation, ed. by N. Bhattacharya and P. Stubblefield, Springer-Verlag UK, in press.

○総説

花田三四郎、酒井康行 "組織工学的手法を用いた肝組織再構築に関する研究の現状と課題" 生産研究, 60, 147-151 (2008).

**AIDS Clinical Center (ACC) at
National Center for Global Health and Medicine, JAPAN**

Fumihide KANAYA, CPH Research Fellow

PROFESSIONAL EXPERIENCE:

- At Ministry of Health, Labour and Welfare in Tokyo, Japan,, created data reports in various medical sciences as a federal employee according to the government policies that promote health and welfare of Japanese citizens under supervision of the Director of International Clinical Research Center (ICC)
- At the Fenway Institute in Boston, MA, managed the Ryan White CARE Act Data Report (CADR) to the United States National HIV/AIDS Bureau of the U.S. Department of Health and Human Services (HHS), administrating data mining of electronic medical records (EMR) and analysis. Coordinated and submitted high quality Client-Level Data on primary ambulance and specialty services for the Ryan White Title-III Client Demonstration Project.
- Coordinated and developed work plans and conceptual models for multiple clinical trials and population studies that require electronic data mining and analysis. Designed protocols, recruitment methods, disseminations for manuscripts and quality management activities. Studies include: New Champions Project; a Community-Based Participatory Research, evaluating methamphetamine prevention by SAMHSA, Substance Abuse and Mental Health Services Administration, the Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Chart Review Project, The Massachusetts Club Drug Initiatives; an Evidence-Based Program Evaluation (EBM) for the Massachusetts Department of Public Health.
- Controlled Clinical Data Quality Assurance implementation of patient clinical data for NIH/Center for AIDS Research (CFAR) Network of Integrated Clinical Systems (CNICS). Implemented and evaluated "Health Navigator" Peer Counseling strategies. This was a nationwide patient database that will have the power to answer clinical research questions about HIV treatment and care, and improve the agency-wide data collection methods.
- At Massachusetts Institute of Technology in Cambridge, MA, Conducted statistical genetic analysis to investigate features of spontaneous mutation of antibiotic resistant genes under Professor Maurice S. Fox, director of MIT Biology Department, supported by NIH.

SELECTED WORKS:

- Fujioka K, Futamura Y, Shiohara T, Hoshino A, Kanaya F, Manome Y, and Yamamoto K. Amino Acid Synthesis in a Supercritical Carbon Dioxide - Water System. *Int. J. Mol. Sci.* 2722-2732, June 2009.
- Coleman SM, Boehmer U, Kanaya F, Grasso C, Tan J, Bradford JB. Retention challenges for a community-based HIV primary care clinic and implications for intervention. *AIDS Patient Care and STDs.* 21(9):691-701, September 2007.
- Szumowski JD, Cohen, DE, Kanaya, F, Mayer, KH. Treatment and Outcomes of Infections by Methicillin-Resistance Staphylococcus Aureus at an Ambulatory Clinic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 51(2):423-8, February 2006.
- Keirse, D, Bates, M, Sawada, K, Kanaya, F. Please understand me: Japanese edition. Shogakukan Publishing. ISBN-13: 978-4796880039; September 2001.
- Kanaya, F, Fox, MS. Unstable mutants accumulate under non-lethal selection in Escherichia coli. Presented at the Boston Bacterial Meeting, Harvard University, June 2000.

自己紹介書

1 所属 東邦大学 医学部 解剖学講座 生体構造学分野 助教

2 氏名 井上 由理子

3 これまでの研究内容

大学院では、ラット胎児の海馬の初代培養細胞を用いて、ポストシナプスに発現する海馬のシナプス伝達の可塑的变化に伴って発現調節される遺伝子、Homer1a の分子機能解析をテーマとして研究に取り組みました。海馬初代培養細胞への遺伝子導入、薬理的な細胞刺激後のタンパク質変化の解析などを通じて、Homer1a がシナプスの再構築に重要な働きを持つ可能性があることを示しました。聖マリアンナ医科大学では、iPS 細胞を用いた神経ネットワークの再構築をメインテーマとして、神経接着因子 L1 を欠失したノックアウトマウスに片麻痺をおこさせ、iPS 細胞由来の神経前駆細胞を移植し、神経再生における接着因子の役割の解明を行っています。脳梗塞や脳外傷では、半身不随（片麻痺）などの運動機能障害が起こるが、一度破壊された神経細胞の再生は難しいとされてきました背景があるからです。具体的で効果的な治療法に結びつける為、拒絶反応、倫理面など問題が多い胚性幹細胞(Embryonic stem cell : ES 細胞)から実用性の高い人工多能性幹細胞（以下、iPS 細胞）を利用した片麻痺の回復の実現を目標にしていました。

4 代表的な研究業績

【 原著 】

1. **Y.Inoue**, H.Udo, K.Inokuchi and H.Sugiyama
Homer1a regulates the activity-induced remodeling of synaptic structures in cultured hippocampal neurons
Neuroscience, 2007 150(4):841-52 (査読有)
2. T.Ishibashi, S.Ogawa, Y.Hashiguchi, **Y.Inoue**, H.Udo, H.Ohzone, A.Kato, R. Minakami and H.Sugiyama
A Novel Protein Specifically Interacting with Homer2 Regulates Ubiquitin-Proteasome Systems
Journal of Biochemistry, 2005 137(5): 617-623 (査読有)
3. **Y.Inoue**, N.Honkura, A.Kato, S.Ogawa, H.Udo, K.Inokuchi and H.Sugiyama
Activity inducible protein Homer1a/Ves1-1S promotes redistribution of postsynaptic protein Homer1c/Ves1-1L in cultured rat hippocampal neurons
Neuroscience Letters, 2004 354(2): 143-147 (査読有)

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. 出版業績

著者氏名	論文タイトル	書籍名	出版年度	掲載ページ
Kato S, Itoh K, Yaoi T, Tozawa T, Yoshikawa Y, Yasui H, Kanamura N, Hoshino A, Nanabe N, Yamamoto K, Fushiki S.	Organ distribution of quantum dots after intraperitoneal administration with special reference to area-specific distribution in the brain.	Nanotechnology	2010	21(33):335103
Hoshino A, Iimura T, Ueha S, Hanada S, Maruoka Y, Mayahara M, Suzuki K, Imai T, Ito M, Manome Y, Kirino T, Yamaguchi A, Matsushima K, Yamamoto K.	Deficiency of chemokine receptor CCR1 causes osteopenia due to impaired functions of osteoclasts and osteoblasts.	J. Biol. Chem.	2010	285(37):28826-28837,
Yamamoto K.	The Exposure of nanoparticles for Human Body.	J. Soc. Powder Technol. Jpn.	2011	48(1):34-38
Hoshino A, Hanada S, Yamamoto K	Toxicity of nanocrystal quantum dots: The relevance of surface modifications	Arch. Toxicol.	2011	in Press
Fujioka K, Hanada S, Kanaya F, Hoshino A, Sato K, Yokosuka S, Takigami Y, Hirakuri K, Shiohara A, Tilley RD, Manabe N, Yamamoto K, Manome Y.	Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles	Journal of Physics: Conference Series	2011	in Press

2. 発表業績

1. Hanada S, Miyaoi K, Hoshino A, Yamamoto K. Size- and structure-dependent toxicity of silica particulates Biomedical Optics meeting, SPIE Photonics West Conference 2011 Jan 22, 2011. San Francisco, CA, USA.
2. Fushiki S, Itoh K, Kato S, Yaoi T, Umekage M, Tozawa T, Yoshikawa Y, Yasui H, Hoshino A, Manabe N, Yamamoto K. “Distribution of quantum dots after intraperitoneal administration, with reference to area-specific distribution in the brain“ (**Invited Paper**), Bios meeting, SPIE Photonic West. Jan 24, 2011. San Francisco, CA, USA.
3. Fujikoka K, Hanada S, Hoshino A, Hirakuri K, Sato K, Shiohara A, Tilley RD, Manome Y, Kanaya F. “Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles.” Nanosafe 2010, November 18, 2010. Grenoble, France.

