

生体影響予測を基盤としたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の提案

研究代表者：渡邊 昌俊 三重大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨：本研究は、①ナノマテリアルの *in vitro* 安全性評価法の高度化と *in vivo* 実験による当該評価法の検証、②自験、文献などのデータによる AOP の確立、③自験、文献などのデータによる生体影響に関するワールドワイドなデータの集積に基づくデータベースの構築、④それらの成果に機械学習などによる *in silico* 生体影響予測を組み合わせたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の提案の 4 点を引き続き目標とした。また、共通のナノマテリアルとして、二酸化チタンナノ粒子を選択した。①に関して、ヒト 3D 皮膚再構成系による金属ナノマテリアルの一般毒性評価系および共培養系を用いたナノマテリアルの遺伝性毒性評価を用いた、二酸化チタンの評価準備を行った（中江、戸塚、林、渡邊）。②に関して、microRNA の挙動から、ROS 依存性の複数経路で細胞毒性を誘発する可能性及び新規評価項目を見出した（渡邊、花方、林）。③に関して、ナノマテリアルの安全性評価に関わる試験データおよび QSAR/Read-across 解析を行うために有用なナノマテリアルの安全評価に関する情報項目について精査を行った（大野、三宅）。④に関して、機械学習における学習用サンプル情報のラベリング方法および入力特徴量の調整と検討、機械学習に用いる実測データを得るために酸化亜鉛、二酸化チタンを曝露した細胞毒性を含めた条件の決定を実施した（花方）。

研究分担者：

中江 大 東京農業大学応用生物学科学部食品安全健康学科 教授
戸塚 ゆかり 国立がん研究センター研究所・発がん・予防研究分野 ユニット長
花方 信孝 国立研究開発法人物質・材料研究開発機構
技術開発・共用部門 副部門長
三宅 祐一 静岡県立大学 食品栄養科学部 助教
大野 彰子 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 主任研究官
林 幸孝 九州大学大学院歯学研究院 准教授

研究協力者：

煙山 紀子 東京農業大学応用生物学科学部食品安全健康学科 助教
美谷島 克宏 東京農業大学応用生物学科学部食品安全健康学科 教授
広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 部長

A. 研究目的

開発・使用されているナノマテリアルの社会的受容には、十分な安全性評価と、仮にリスクがある場合、ベネフィット・リスクバランスを考慮した低減化が必要である。加えて、欧米では、これらの安全性評価やリスク低減が通商政策で戦略的に実施され、我が国でも同様の戦略が必須であり、安全性評価の高度化・標準化も必須である。

このような背景で、一般化学物質と同様にナノマテリアルも作用メカニズムに基づいて有害性発現経路（Adverse Outcome Pathway, AOP）の確立や定量的構造活性相関(Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR)・リードアクロス（類推、Read-

across) などの *in silico* 解析と、所謂「ウエット」な評価を組合せた統合的手法が求められる。また、動物愛護の 3R (Replacement・Reduction・Refinement)原則より、動物実験代替法としての *in vitro* 評価法も重視される。申請者らは、現在までに、動物代替法として、ナノマテリアル曝露経路として皮膚・肺を想定し、ヒト生体環境を反映した新規 *in vitro* 評価系を開発し、これに DNA アダクトーム法を組み合わせ、ナノマテリアル誘導遺伝子変異頻度・様式を解析する統合的システムの構築を行い、また遺伝子などの生体応答を解析し、AOP を確立している。

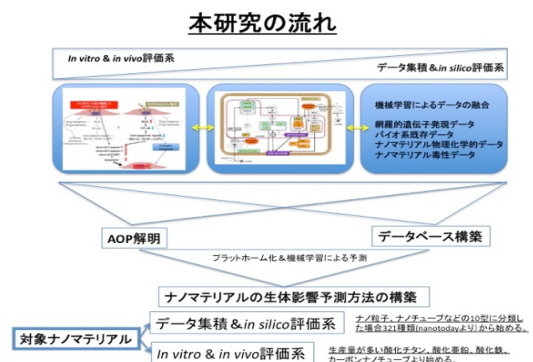


図 1. 本研究の流れ

本研究は、上記の成果を踏まえて、①共培養、切片担体培養、ヒト皮膚三次元再構成系などのナノマテリアルの *in vitro* 安全性評価法の高度化と *in vivo* 実験による当該評価法の検証、②自験、文献などのデータによる有害性発現経路の確立、③ナノマテリアル毒性試験データベースの作成：試験データ項目の収集・探索・精査、④それらの成果に機械学習などによる *in silico* 生体影響予測を組合せたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法を構築する(図1)。以下に3年間の分担研究者の報告の概略を記載する。実験条件などを含む詳細については、個々の研究者の報告書を参照されたい。

B. 研究方法、結果および考察

B1. ナノマテリアルの *in vitro* 安全性評価法の高度化と *in vivo* 実験による当該評価法の検証

B1-1. ナノ粒子の共培養システム構成細胞に対する毒性(戸塚)

B1-1-1. マグネタイトをもちいた研究

細胞毒性試験：各 MGT(BMS-10、BMSC-5)を単培養の GDL1 に 6.25~200 $\mu\text{g/ml}$ で、RAW264.7 に 3.125~200 $\mu\text{g/ml}$ で 24 時間曝露し、曝露した際の細胞生存率を NR assay により測定した。GDL1 単培養では、MGT の表面修飾の有無に関わらず、いずれの濃度においても殆ど毒性を示さなかった。一方、RAW264 単培養では、BMS-10 は 200 $\mu\text{g/ml}$ で BMSC-5 は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で生存率が減少し、毒性が見られ、表面修飾の有無で毒性強度に差があることがわかった。

共培養システムによる遺伝毒性試験法：共培養条件下の RAW 細胞または RAW 及び GDL1 の両細胞に各 MGT(BMS-10、BMSC-5)を 24 時間曝露し、6~7 日間培養した後、GDL1 細胞から DNA を抽出し、*gpt* 遺伝子を標的とした変異原性試験を行った。結果を図2に示す。MGT 曝露群では溶媒対照群と比較して変異頻度が増加する傾向が観察された。また、BMS-10 では、単培養に比較して RAW264.7 との共培養条件下で変異頻度が上昇する傾向が観察されたが、BMSC-5 では単培養条件下で高い変異頻度が観察されており、共培養条件下では MF が減少する傾向が観察された。また、両 MGT を比較すると、BMSC-5 の方が高い変異頻度を示していた(図2)。更に、変異原性誘発のメカニズム探索のため、本研究で用いた MGT により誘発される変異スペクトルの解析を試みた。その結果、両者では観察された変異スペクトルが大きく異なることがわかった(図3)。これらのことから、ポリアクリル酸の表面修飾が遺伝毒性発現に何かしらの影響を及ぼしていることがわかった。

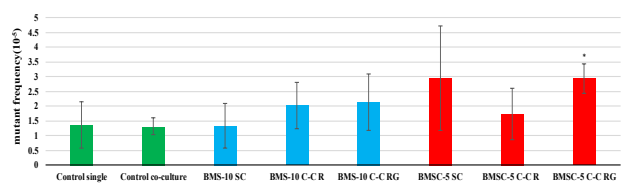


図2. GDL1細胞に観察された変異頻度

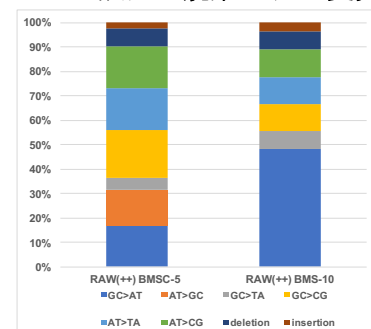


図3. 変異スペクトラム

B1-1-2. 酸化チタンを用いた研究

本試験で用いた酸化チタンは、JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102 である。このうち、JRCNM01001a, JRCNM1005a は EU の Joint Research Center (Ispra, Italy) より、MT-150A, AMT-100, TKP-102 は本研究班の大野先生より供給された。これらマテリアルは DMEM+ 10% FBS+1% penicillin/streptomycin 基本培地に懸濁して超音波処理を行い以下の試験に供した。酸化チタンナノ粒子は特に凝集しやすいことから、トリパンプルーの取り込みを指標に細胞毒性試験を行うこととした。実験に供した細胞は、*gpt delta* マウスより樹立された GDL1、マクロファージ様細胞の RAW264 の 2 種類。6well plate に RAW264 及び GDL1 を 1×10^6 cell/well 及び 5×10^5 cell/well で播種し、24 時間培養した。その後、各細胞に 5 種の酸化チタンナノ粒子を RAW264 に 125, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 、GDL1 には 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ を各 well に添加し、24 時間曝露後にトリパンプルーを用いて細胞生存率を測定した。

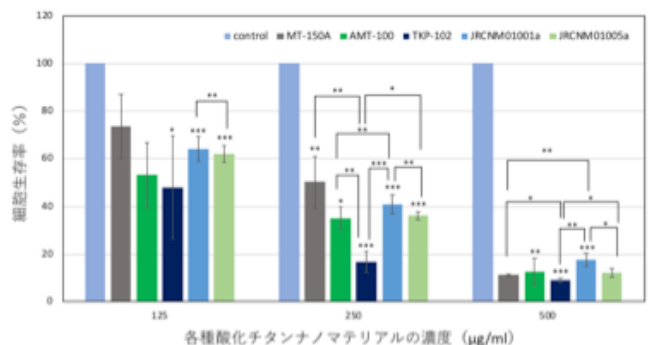


図2. 各種酸化チタンナノ粒子の RAW264 に対する細胞毒性

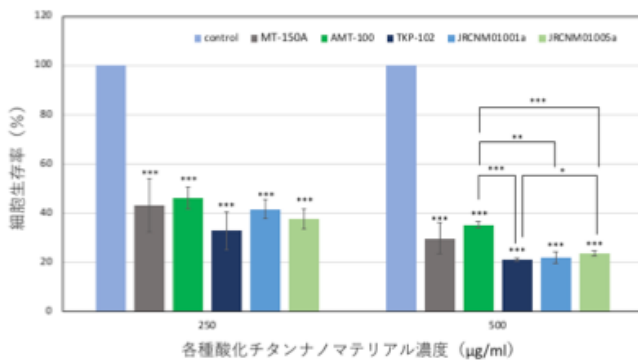


図3. 各種酸化チタンナノ粒子のGDL1に対する細胞毒性

その結果、RAW264及びGDL1に対して、いずれの酸化チタンナノ粒子も用量依存的に細胞生存率を低下させることがわかった(図1及び2)。また、細胞毒性の程度はGDL1に比べRAW264で顕著であることがわかった。この結果から、遺伝毒性試験における各種酸化チタンナノ粒子の用量としては、125, 250 µg/mLで行うことに決定した。

B1-1. 共培養システムによる遺伝毒性試験法(戸塚)：始めに被験物質の調整を行なった。BMSC-5(カルボキシル基修飾マグネタイトナノ粒子)を4°C、10000 rpm、10 minで遠心分離をし、上清と沈殿に分けた。沈殿したBMSC-5は超純水で再懸濁して遺伝毒性試験に供した。GDL1細胞を播種して24時間培養した後、ThinCert™(pore size; 0.4 µm、high density: greiner bio-one)を各wellに入れ、インサート内にRAW264を播種し、24時間培養した。BMSC-5をRAW264のみ、またはRAW 264とGDL1の両方に24時間曝露させた後にトリプシン処理によりGDL1を回収し、一定期間培養した後に細胞からDNAを抽出し、*in vitro*パッケージングによってトランスジーンλEG10をファージ粒子として回収した。回収したファージをCre組換え酵素発現している大腸菌YG6020株に感染させると、λEG10上にある一組のloxP配列に挟まれた領域がCre組換え酵素によって切り出され、プラスミドに転換する。感染後のYG6020菌液を6-thioguanin (6-TG)とchloramphenicol (Cm)を含むM9寒天培地に播いて37°Cで培養すると、プラスミド上の*gpt*遺伝子が不活化している変異体のみが、6-TGを含む寒天培地上でコロニーを形成する。また、Cmを含むM9寒天培地に播いて生じたコロニー数から、感染ファージ由来のプラスミドによる形質転換効率を求め、変異コロニー数を形質転換コロニー数で除去して突然変異頻度を算出する。

GDL1単独および共培養条件下のRAW細胞またはRAW及びGDL1の両細胞に5種の酸化チタンナノ粒子(JRCNM01001a, JRCNM01005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102)を125, 250 µg/mLの用量で24時間曝露した。曝露後、培地交換により酸化チタンナノ粒子を取り除き、更に6~7日間培養

した。それらGDL1細胞からDNAを抽出した。まずはAMT-100とTKP-102曝露における*gpt*遺伝子を標的とした変異原性試験を実施した。また、*gpt* mutation assayを行なった。タイターが十分稼げていない結果もあり、PreliminaryなデータではあるがAMT-100とTKP-102のどちらの酸化チタンナノ粒子でも共培養した時より単培養した時の方が変異頻度の増加が見られた。しかし、AMT-100の250 µg/mlの単培養と共培養では共培養した時の方が変異頻度の増加が見られた。いずれも酸化チタンナノ粒子の用量非依存的であり、共培養よりも単培養で変異頻度が高い傾向が観察された。この結果は先行研究のナノマグネタイトや多層カーボンナノチューブの結果とは異なる結果となった。今回行なった実験で共培養よりも単培養での曝露の方が変異頻度が上昇したのはマクロファージ様細胞であるRAW264.7からの炎症性サイトカインまたはROSの分泌がGDL1への変異原性を上昇させるレベルではなかったか、あるいは酸化チタンナノ粒子自身がGDL1に対して直接的な変異原性を十分に持つ可能性が考えられた。しかしながら、各サンプルのタイターからも、解析が不十分であることが考えられるため、最終的な評価には更なる検討が必要であると思われる。

B1-2. 共培養システムを用いて二酸化チタンナノ粒子などの遺伝毒性評価のための各種条件検討(林、渡邊)：ナノマテリアルの*in vitro*安全性評価法の高度化という目的に合わせて共通のナノ粒子：二酸化チタンおよび酸化鉄ナノ粒子を用いることにした。

1000-15.63 µg/mLのTiO₂の希釈系列を作製した。

①4000 µg/mLのTiO₂を作製のため15 mLチューブに20 mgのTiO₂を量り5 mLのメディウムに溶かした。

②水中にてソニケーター設定PWM 30%で15 mLチューブの中で1分間、プローブを上下に動かし分散させた。

③TiO₂が分散浮遊しているうちに短時間で希釈系列を作製した。

④96 wellに5000 cellsのA549細胞を100 µLで播種した。播種して24時間後に、すべてのwellの上清を50 µL抜いて、希釈系列TiO₂溶液を50 µL添加し計100 µLになるようにして6、12、24、48時間インキュベートした。各インキュベート終了時間に到達したものより、CCK8を10 µL各プレートに添加し、2時間後にプレート遠心機で5000 rpm、3分遠心後、上清80 µLを新しい96 wellプレートに移し替えて、450 nmの吸光度で測定した。系列

① TiO₂+メディウム+CCK8 : Blank

② メディウム+Cells+CCK8 : Control

③ TiO₂+メディウム+Cells+CCK8 : Sample
 細胞生存率 = $\frac{\text{③} - \text{①}}{\text{②}} \times 100$

凝集しやすい二酸化チタンナノ粒子の細胞増殖への影響を評価するために、新たなプロトコルを作成し、確定した(図4)。前年度と同様に、以下の結果を得た。いずれも非曝露群に対して曝露群の多くにおいて、細胞増殖が促進するのを認めた。一方、さらに非曝露群に対して細胞増殖が減少したものはMT150およびTKP102であり濃度は125、500 μg/mLの添加量であった。

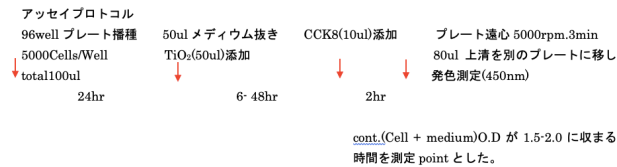


図4. 二酸化チタンナノ粒子細胞毒性評価プロトコル

林は、本研究の対象ナノ粒子である酸化鉄ナノ粒子の新たなる未知データとして使用する酸化鉄ナノ粒子の作製を行なった。鉄(III)アセチルアセトネートを前駆体として用いた加水分解・縮合により、結晶子サイズ及び磁気的性質が精密に制御された酸化鉄ナノ粒子(マグネタイト或いはマグヘマイト)を得ることに成功した。得られた酸化鉄ナノ粒子の結晶子サイズは加水分解・縮合に用いるヒドラジーン水和物と水の添加量で制御することができた。結晶子サイズは5~10 nmの範囲で、ナノメートルレベルで制御できた。

B1-4. ヒト 3D 皮膚再構成系を用いた遺伝毒性評価系の開発(中江) : 二酸化チタンナノ粒子(JRCNM01001a・JRCNM01005a・MT-150A・MT-500B・AMT-100・AMT-600・TKP-102)の経皮毒性について、正常ヒト表皮由来ケラチノサイトNKEK(クラボウ)を用いた単層培養系、またはLabCyte EPIモデル(株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング)(図5)を用いたヒト3D皮膚再構成系において解析すると共に、ヒト3D皮膚再構成系を用いた小核試験法を確立する前段階としてNKEK単層培養系で行っている。その結果、NHEK単層培養系において、AMT-100・AMT-600・TKP-102の500 μg/mL以上の高濃度曝露(24時間)では細胞毒性が検出されたが、他の二酸化チタンナノ粒子では細胞毒性が検出されなかった。また、ヒト3D皮膚再構成系においては、いずれの二酸化チタンナノ粒子も細胞毒性を示さなかった。ICP-MS解析でも、培養液中にチタンは検出されなかった。これらのことから、二酸化チタンナノ粒子のケラチノサイト毒性の有無と強度には当該粒子の物理科学的性状が関与し、また、表皮の重層構造は二酸化チタン

ナノ粒子の細胞毒性を防御し得るものであることが示唆された。

小核試験は、チャイニーズハムスターの肺由来線維芽細胞CHL/IUを用いた常法の条件を改変し、マイトマイシンCの曝露から24時間後と72時間後の小核誘発について解析した。NHEKにMCC 10 μg/mLまたはDMSOを3または6時間曝露、24または72時間まで培養し、2核細胞1000個中の小核の有無と個数を解析した。その結果、24時間培養条件では2核細胞数が著しく少なく試験が実施できなかったが、72時間培養条件ではMMCで陽性結果、DMSOで陰性結果を得ることができた(表1)。二酸化チタンナノ粒子のケラチノサイト毒性の有無と強度には当該粒子の物理科学的性状が関与し、また、表皮の重層構造は、二酸化チタンナノ粒子の細胞毒性を防御し得るものであることが示唆された。また、二酸化チタンナノ粒子は凝集しやすく、これらの正確な評価の為には分散制御が重要であると考えられた。NHEKを用いた小核試験を可能とするプロトコルが得られた。

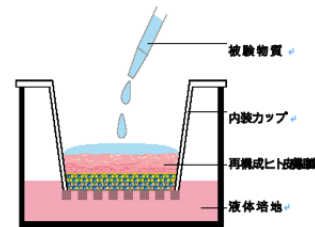


図5. LabCyte EPI 24モデル

表1. NHEK細胞を用いた小核試験

培養時間 (h)	被験物質	曝露時間 (h)	1核細胞	2核細胞	3核以上細胞	CBPI	2核細胞		2核細胞中の小核細胞比率(%)
							小核あり	小核なし	
24	MMC	3	478	29	0	1.1	-	-	-
	DMSO	3	332	130	39	1.4	134	882	13.2
72	MMC	3	420	227	27	1.4	298	703	29.8*
	DMSO	6	319	232	19	1.5	92	960	8.7
	MMC	6	320	166	15	1.4	226	776	22.6*

B2. 有害性発現経路の確立

B2-1. microRNAの挙動からの酸化鉄ナノ粒子(Fe₃O₄-NPs)の細胞への影響解析(渡邊・林・花方) : 酸化鉄ナノ粒子(Fe₃O₄-NPs)のA549細胞への影響をmicroRNA(miR)の発現とその標的について、前年度に引き続き解析を行った。今年度は、酸化鉄ナノ粒子(Fe₃O₄-NPs)を各濃度でDU145細胞に24

時間の曝露後、リアルタイム PCR を用いて miR-5787、494-3p の発現解析を行った (図 6,7)。A549 細胞と同様に、miR-5787、miR-494-3p は、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ より 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ において、発現量が増加した。また、N-acetylcystein (NAC)で活性酸素種(ROS)発生を抑制すると、いずれもの発現量が抑制されるも、完全には抑制されなかった。過酸化水素で処理した場合、いずれも発現量が上昇し、なおかつ NAC 処理において、発現がほぼ抑制されるのを認めた。これら microRNA は ROS を減少させると発現量が減少するが、必ずしも完全には抑制されなかった。これはナノ粒子による ROS 依存的な発現制御のみならず、ナノ粒子自体の細胞への影響による可能性も考えられた。

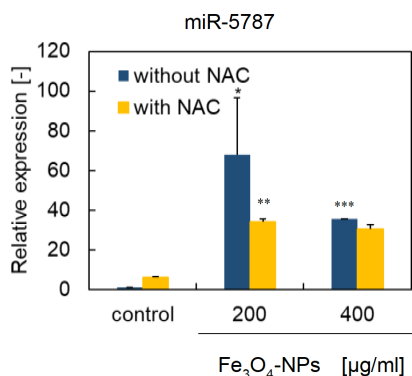


図 6. 磁性体ナノ粒子曝露による miR-5787 発現量変化

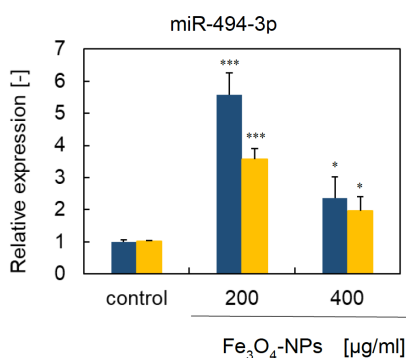


図 7. 磁性体ナノ粒子曝露による miR-494-3p 発現量変化

eIF5 については既に報告しているが、今年度はさらに CXCR4 についての発現も解析を行なった。磁性体ナノ粒子曝露により、特に 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ において、eIF5 のタンパク発現量はほとんど消失するまで減少し、NAC 処理によりコントロールに近いレベルまで回復するのを認めた (図 7,8)。特に ROS の影響を受けた抑制を認めた。これは、過酸化水素曝露においても同様の結果を得た (図 9)。CXCR4 タンパク質の発現も eIF5 と同様に、磁性体ナノ粒子濃度依存的に減少傾向を認めた (図 10)。

microRNA の発現プロファイルから、ROS 依存性であり、複数の経路から細胞傷害に関与することが推測された (図 11)

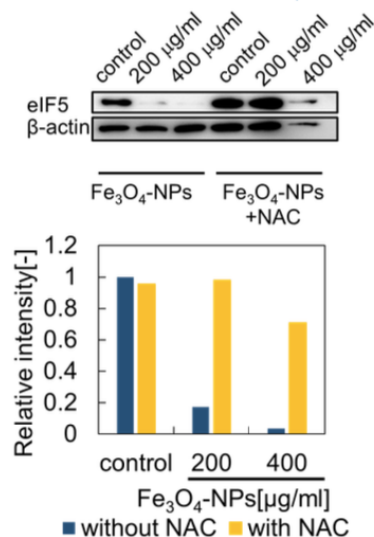


図 8. 酸化鉄ナノ粒子曝露後の eIF5 の発現

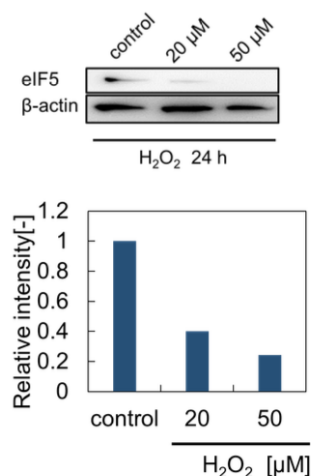


図 9. 過酸化水素曝露時の eIF5 タンパク質発現

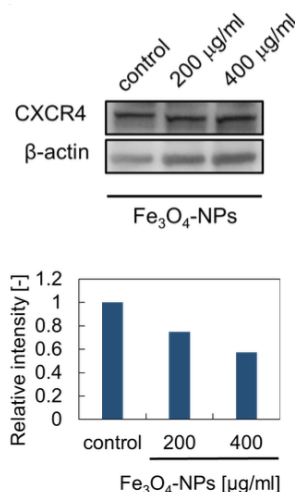


図 10. 磁性体ナノ粒子曝露時の CXCR4 タンパク質発現

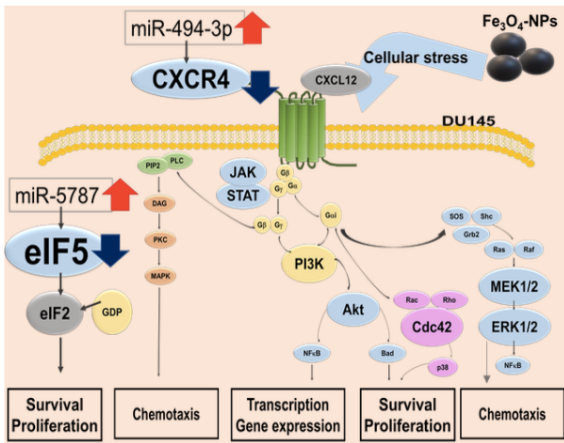


図11. まとめ

B2-2. 新規ナノマテリアル毒性評価指標の探索

新規ナノマテリアル毒性評価指標は、一次線毛動態である。一次線毛は細胞膜上に生じる不動性の突起物であり、この出現は中心体の消失とともに細胞周期を停止させる。比較的容易に観察できることより、A549細胞での一次線毛を特異的な抗体で確認をした(図12)。同細胞に障害を与えると、消失することより、細胞への障害と一次線毛の動態が関係する可能性を考える。講座内での他の研究者の報告では、進行癌(前立腺癌、膵癌)において、一次線毛は消失していると報告している(私信)。また、1次線毛が、脂肪組織形成に関わることを報告した(Cell Rep, in press)。

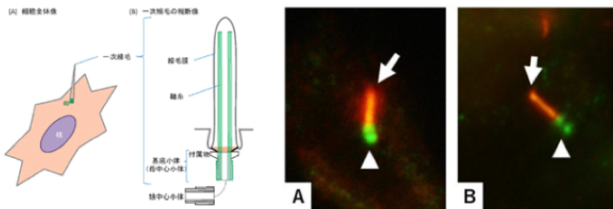


図12. 一次線毛について

B3. ナノマテリアル毒性試験データベースの作成：試験データ項目の収集・探索・精査

B3-1. ナノマテリアルの安全性評価に関わる試験データの探索・精査(三宅)：消費者製品に含まれる化学物質や粒子の曝露評価ツールに関する調査にて、特に汎用性が高く使い勝手も優れていると考えられた、オランダ国立公衆衛生環境研究所(RIVM)が開発したConsExpo-nanoを本年度は対象とした。ConsExpo-nanoを用いたナノマテリアル曝露評価に必要な情報を調査し、室内でのスプレー製品の使用を想定したケーススタディを行い、推算値の精度を文献値と比較することで評価した。また、ConsExpo-nanoを用いて曝露量を推定する際にパラメータが結果に与える影響を定量的に評価するため、感度解析を行った。ConsExpo-nanoのデフォルト値を基準とし、デフォルト値が設定され

ていないパラメータは二酸化チタンを含む消臭製品の使用を想定し、基準値を設定した。

ナノマテリアルを含むスプレータイプの消費者製品を使用した際の、使用者へのナノマテリアルの曝露量を推定するために必要なパラメータを収集、整理した。ConsExpo-nanoで設定できるパラメータは、曝露時間(min)、エアロゾル粒子密度(g/cm^3)などであり、ナノマテリアルの性状を条件として入力することが可能であった。

ConsExpo-nanoでは、ほとんどのパラメータにおいてデフォルト値が設定されていたが、ナノマテリアル密度(g/cm^3)、ナノ粒子径(nm)、ナノ粒子高さ(nm)、ナノ粒子厚み(nm)、ナノ粒子表面積(nm^2)のようなナノマテリアルの性状については数値を入力する必要がある。これらの情報に加え、曝露量に関する情報が記載された文献を用いて、二酸化チタンを含むスプレー型消臭製品についてケーススタディを行い、ConsExpo-nanoの推算値の精度を評価した。

ConsExpo-nanoを用いて推算した曝露量と文献値の比は、吸入量については0.104倍、肺泡沈着量については1.02倍となった。このように、ナノマテリアルの曝露量に関する初期評価には、十分使用可能であると考えられる。

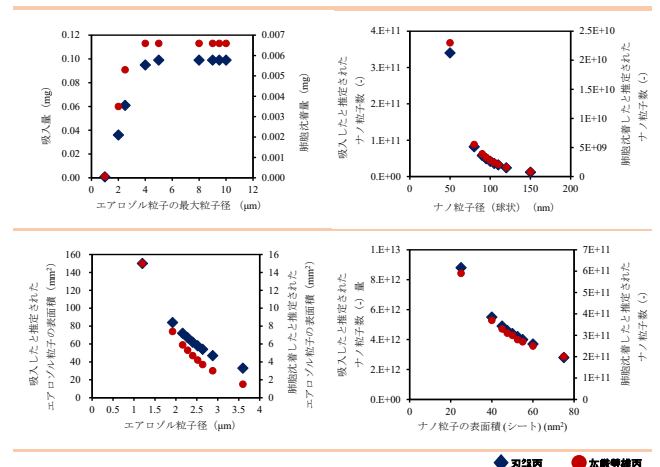


図13. 非線形関係にあった入力パラメータと推定された曝露量の感度解析の結果

ConsExpo-nanoへの入力パラメータについて感度解析を行った結果を図12に示す。入力パラメータとエアロゾル粒子の曝露量の関係は大きく分けて、線形関係と非線形関係の2つに分けられた。製品に関するパラメータ、エアロゾルに関するパラメータ、製品使用状況に関するパラメータは、エアロゾル粒子の曝露量と線形関係にあった。一方、非線形関係にあった入力パラメータと推定された曝露量として、エアロゾル粒子の最大粒子径とエアロゾル粒子の曝露量、ナノ粒子径と曝露されると推定されたナノ粒子数、エアロゾル粒子径と曝露されると推定されたエアロゾル粒子

の表面積、ナノ粒子の表面積と曝露されると推定されたナノ粒子数が挙げられた。パラメータが変動しうる範囲も考慮する必要があるが、非線形関係は線形関係と比較して、パラメータに敏感に反応するため、ConsExpo-nano を用いる際にはこれらのパラメータについてより詳細に調査し、入力する必要があることが示唆された。

以上の結果をもとに、ConsExpo-nano を用いて行政関係者および事業者などが手軽にナノマテリアルの曝露リスク評価を行えるようにテクニカルガイダンスを図 14 のように作成した。

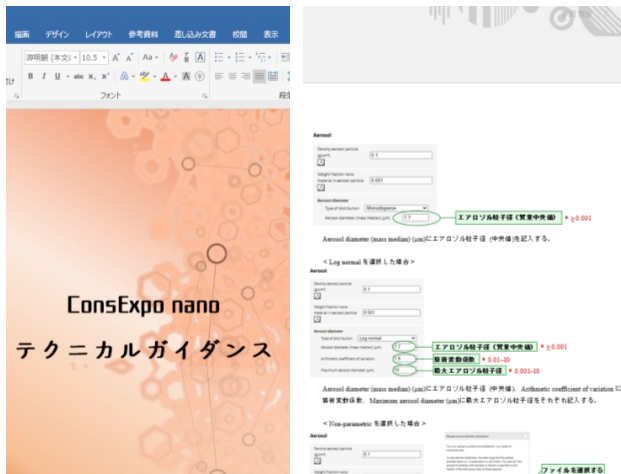


図 14. ConsExpo-nano テクニカルガイダンス

その有用性からConsExpo-nanoを取り上げ、行政関係者および事業者などが手軽にナノマテリアルの曝露リスク評価を行えるようにテクニカルガイダンスを作成し、今後の試用が望まれる。

B3-2. ナノマテリアルの各種毒性試験に基づく有害性情報のデータベースの作成（大野）：

研究期間中、二酸化チタン、二酸化ケイ素、マグネタイトを対象に解析を行なった。ここでは、二つのナノマテリアルの結果を示す。①テイカ社から提供された 5 種の二酸化チタンナノ粒子 (TiO₂ NPs: MT-150A, MT-500B, AMT-100, TKP-102, AMT-600、表 2) については、これらまでの有害性評価に重要となる物理化学的性状の項目について測定を含めた物性情報を収集すると共に、有害性データについての物性との関連性解析を実施した。②マグネタイトについては、これまでの研究で実施（主に厚生労働科学研究成果データベース MHLW GRANTS SYSTEM への公表分）されている有害性情報と物性情報を収集し、有害性データについての物性との関連性解析を実施した。

【有害性情報の調査対象情報源】

本研究班で実施された in vitro 毒性試験結果および厚生労働科学研究成果データベース MHLW GRANTS SYSTEM に公表された厚労科学研究費補助金化学物質リスク研究事業研究報告書、及びこれらの研究成果として公表された原著論文を調査対象情報源とした。

【物理化学的性状・有害性情報の情報整理項目】

物理化学的性状データは、凝集、結晶子サイズ、比表面積、ゼータ電位、表面化学、その他のプロパティ等 について収集整理した。調査対象情報源に記載された有害性情報は、in vivo 試験結果（吸入ばく露試験、気管内投与試験、腹腔内投与・経口投与試験による急性毒性、免疫毒性、アジュバント効果）in vitro 試験結果（細胞毒性試験、遺伝毒性試験等の EC50 値等）について収集整理した。

表 2 調査対象物質

	種類	Crystal phase	Crystal size (nm)	Surface coating	Composition (TiO ₂ %)
MT-150A	微粒子酸化チタン	Rutile	15	uncoating	99.8
MT-500B	微粒子酸化チタン	Rutile	35	uncoating	99.7
AMT-100	光触媒作用酸化チタン	Anatase	6	uncoating	98.7
TKP-102	光触媒作用酸化チタン	Anatase	15	uncoating	99.6
AMT-600	光触媒作用酸化チタン	Anatase	30	uncoating	99.7

【二酸化チタンナノ粒子の物理化学的性状の分析対象項目】

- 不純物の成分分析（化学分析）：高周波誘導結合プラズマ発光分光分析装置(ICP-AES) (Ce、Nb は蛍光 X 線分析) による定性分析（対象元素：K、Ca、Na、S、Ce、Nb：下限 0.1%、Fe、Si、P、Al、Cr、Zr、Ti: 下限 0.01%）、ICP 発光分光分析法による定量分析（対象元素：P、Zr、Ca、Ti、Ce、Nb：下限 0.01%）
- 細孔分布・比表面積測定（粒子解析）：窒素吸着 BET 多点法による細孔分布ならびに比表面積測定
- 親水性および疎水性評価（表面化学分析）：粒体浸透速度測定、粒体接触角測定

【研究結果】

二酸化チタンナノ粒子の物理化学的性状の分析結果を表 3 に示す。

不純物の成分分析（化学分析）の結果、Ce(セリウム)は<0.01、Nb(ニオブ)は、<0.4 で検出された。

粒子解析に関して、比表面積は BET プロットの傾き及び切片を用い、BET 式より単分子層吸着量を求め、単分子層吸着量にガス分子一個の占

める断面積（分子占有断面積）をかけて算出した。

表3 二酸化チタンナノ粒子の物理化学的性状

Property	Method/ Instrument	MT-150A	MT-500B	AMT-100	TKP-102	AMT-600
Crystal phase		Rutile	Rutile	Anatase	Anatase	Anatase
Crystal size (nm)		15	35	6	15	30
Composition※						
Impurity (µg/g Fe)	ICP-AES	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
Impurity (µg/g Si)	ICP-AES	< 100	100	< 100	< 100	100
Impurity (µg/g K)	ICP-AES	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000
Impurity (µg/g P) ※1	ICP-AES	< 100	< 100	880	770	620
Impurity-coating (µg/g Al)	ICP-AES	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
Impurity (µg/g Cr)	ICP-AES	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
Impurity (µg/g Zn) ※1	ICP-AES	280	300	270	300	470
Impurity (µg/g Ca) ※1	ICP-AES	870	910	160	280	280
Impurity (µg/g Na)	ICP-AES	2000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000
Impurity (µg/g S)	ICP-AES	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000
Impurity (µg/g Mg)	ICP-AES	-	-	-	-	-
Impurity (% Ce) ※3	ICP-AES	< 0.1	< 0.1	0.9	< 0.1	< 0.1
Impurity (% Nb) ※3	ICP-AES	0.2	0.3	0.4	0.4	0.3
O (wt%)						
Ti (wt%) ※2	ICP-AES	55.7	59.6	62.1	58.4	58.5
TiO2(%) (括弧内はdata-sheetの値)	ICP-AES	92.9(90<)	99.5(90<)	88.9(93)	97.5(96)	97.5(98)
Coating		no	no	no	no	no
Hydrophilic / Hydrophobic		Hydrophilic	Hydrophobic	Hydrophilic	Hydrophilic	Hydrophobic
Specific surface area (m ² /g) (括弧内はdata-sheetの値)	BET	109	35	325(280)	109(110)	55(52)
micropore distribution (細孔容積 cm ³ /g)	BET	0.44	-	0.36	0.32	0.24
micropore distribution (細孔径_ nm)	BET	46	-	2.7	13	26

一方、細孔分布は、BJH 解析による細孔分布曲線を用いて求めた。その結果、MT-150A は、他の検体と比較すると大きな穴を占有されていた。TKP-102 は AMT-150A と同じ比表面積であるが、細孔径が小さく (1/3~1/4) なり、結果的にその容積も小さくなった。AMT-100 は比表面積が最大だが、MT-150A に比べて細孔径が非常に小さいため、その容積も小さくなり、小さな穴で占有されていることが推察された。AMT-600 に関しては比較的少数の大きな穴で占有されていることが推察された。MT-500B はガス吸着による細孔分布測定の上限 (100nm) 付近から上限以上においてガスの吸着が確認されたことから、細孔容積は求めることができなかった。

親水性および疎水性の傾向および相関では (詳細は分担報告書を参照)、高い逆相関 ($R^2=0.9084$) を示し、MT-150A、AMT-100、TKP-102 (ほぼ有意差なし) AMT-600 > MT500B となり、AMT-600、MT500B は疎水性の傾向を示した。予試験的に二酸化チタンナノ粒子の物性と細胞毒性試験結果 (A549 細胞に与える毒性評価試験結果) との関連性解析について、多変量解析 (OPLS 解析) を実施した (図 15)。解析結果から、毒性を示す TKP-102 は、不純物 (P、Zr、Ca) の多さの影響が示唆された。

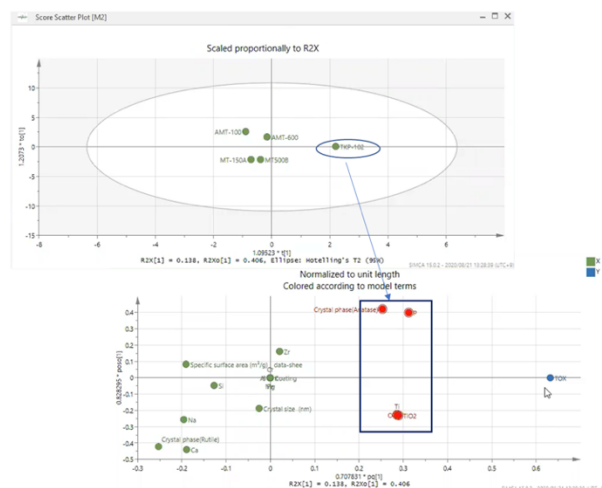


図 15. 物性と細胞毒性試験と物性と多変量解析 (OPLS 解析)

マグネタイトは、*in vivo* 急性毒性試験 (1 試験) 慢性毒性試験 (1 試験) では、試験種類、動物種、試験条件、BAL 細胞数の増加、炎症、生化学値等の変動が生じた LOAEL 等についての Endpoint について調査し収集・整理を行った。*in vivo* (7 試験) / *in vitro* (2 試験) 遺伝毒性試験では、試験種類、試験動物、細胞種、試験条件、結果 (陽性/陰性等) を収集・整理した。*in vitro* 細胞毒性試験 (13 試験) 試験種類、細胞種、試験条件、結果 (EC₅₀ 等) を収集・整理し、その他 2 試験の *in vivo* 試験 (肺発がんイニシエーター活性の検討および中期発がん性試験) の合計 26 試験について収集した (詳細は分担報告書を参照)。

B4. 機械学習などによる *in silico* 生体影響予測の準備 (花方) : データベースを構築する上で元データとして使用する既存のデータベースを選定するために生命科学系データベースの調査、データベースの構築法および機械学習における学習用サンプル情報のラベリング方法および入力特徴量の調整など予測モデルの検討、マイクロアレイ解析の一色法と二色法のデータ変換法の開発、標準ナノ材料として酸化チタン曝露時の毒性試験の実施および遺伝子発現マイクロアレイ解析を目指した。

B4-1. 既存データベースの調査

Integbio データベースカタログを中心に調査を行なったところ、本研究の目的に適するいくつかのデータベースが見出された (表1)。そのうち最大のもはよく知られている NCBI 運営の Gene Expression Omnibus (GEO) であり、DataSets で 4,348 件、Series で 105,964 件、Samples で 2,783,483 件の遺伝子発現データが登録されている (2018/12/14 調査時点)。今後はこの GEO のデータを主に利用することとした。また、Integbio データベースカタログには収録されていないが、化学物質の曝露と遺伝

子や病気との関連をまとめたデータベースとしてノースカロライナ州立大学運営のComparative Toxicogenomics Database (CTD)が存在し、補足的に利用可能と思われる。なお、公開されている既存データベースの中でも、全データを一括ダウンロードして再利用可能なデータベースと、検索はできるものの一部データしかダウンロードできないデータベースが存在した。後者のタイプのデータベースからウェブスクレイピングにより全データをダウンロードすることは可能かもしれないが、当該データベースのライセンス条件的に問題がないかどうか慎重な検討が必要と思われる。

B4-2. 機械学習の実施環境

機械学習ライブラリKeras / Tensor Flowをインストールしてプログラムが実行可能であることを確認した。マイクロアレイ発現データを用いた機械学習の前に、GEOデータベース上のデータと実測したマイクロアレイ発現データを用いたデータマイニングを試みた。

B4-3. データベース構築および機械学習の調整と検討

同一RNAサンプルに対する一色法と二色法のマイクロアレイ解析データからコンバート手法の開発を進めた。遺伝子発現データベースは主にGEOデータベースを利用した。機械学習におけるサンプル情報のラベリングを手動で行うのは大量のデータについては困難なので、サンプルのディスクリプション情報から自動でラベリングしてみたが、精度に問題がある。入力特徴量については計算機的能力からある程度削減する必要があり、変動の小さい遺伝子を除く方向で検討した。

B4-4. 二酸化チタンの毒性試験：標準ナノマテリアルとして7種類の酸化チタン (MT-150A, MT-500B, AMT-100, AMT-600, TKP-102, TiO₂-1001, TiO₂-1005) を細胞に曝露した時の遺伝子発現マイクロアレイ解析の前段階としてこれらの二酸化チタンの毒性をMMT-8法により評価した。浮遊細胞のTHP-1細胞に対しては7種類とも顕著な影響は認められなかった。

一方で付着細胞のRAW264細胞においては、MT-150A, MT-500B, TiO₂-1005の3種類では影響がみられなかったものの、AMT-100, AMT-600, TKP-102, TiO₂-1001の4種類では毒性が認められた。THP-1細胞とRAW細胞で実験の日時に差があり、ナノ粒子径はその都度DLSにより測定したが多少のばらつきがある。しかしながら、RAW細胞に毒性を示した酸化チタンとナノ粒子径との間に相関は認められなかった。

B4-4. ZnO曝露細胞のマイクロアレイ解析

発現強度 (ノーマライズ) : ノーマライズ方法は第3四分位値を基準とする75パーセンタイル法を使用した。発現強度の分布は概ね均等であった。

発現強度 (プローブ) : 今回使用したマイクロアレイスライドはスポット数としては1アレイあたり60,901個あるが、1つのプローブが複数のスポットにある場合があるので、プローブ単位で発現強度をまとめた。なお、プローブの総数は58,201個である。

階層的クラスタリング : 全8アレイのデータのうち8アレイとも発現比が求まったプローブ22,003個の発現強度データで階層的クラスタリングを行なった (図16)。まず、THP-1細胞とA549細胞でクラスタが大きく分かれている。そしてそれぞれの細胞においてZnOに曝露したかしていないかでクラスタが分かれた。6時間後と24時間後の違いは比較的小さいことが分かった。また、A549細胞よりもTHP-1細胞の方がZnOの影響が大きいことが明らかになった。

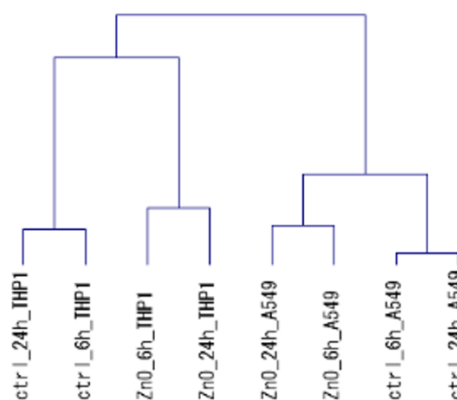


図 16. 階層的クラスタリング

C. 結論

本研究のまとめを図15に示す。*in vitro*系と*in silico*系の統合を図るべく、共通のナノ粒子 (二酸化チタンナノ粒子など) を用い、①ナノマテリアルの*in vitro*安全性評価法の高度化、③自験、文献などのデータによる生体影響に関するワールドワイドなデータの集積に基づくデータベースの構築の実現化を目指した。特に、③に関しては、二酸化チタンナノ粒子 (TiO₂ NPs) を対象に、OECDのナノマテリアル安全性評価プログラムにおいて作成されたドシエの評価文書およびナノマテリアルのデータベースeNanoMapperに記載されている物性データと有害性情報の試験データについて収集し、可能な限りの物性について、様々な統計方法による特性解析および毒性評価を行い本解析手法の有用性について検討した。ナノマテリアルの安全性評価において、多変量解析法は物性と有害性の関連性について有用な解析手法であることが示唆された。今更ながらであるが、ナノマテリアルの毒性はその工程で含まれる不純物の影響やどの細胞を使用して細胞毒性評価をするかに影響することが

判明した。自分たちの特異的な*in vitro*系評価系による自験データを③に組み込む統合的な評価系の構築の可能性を得ることができた。

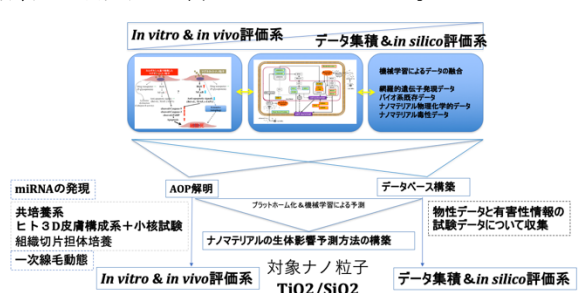


図15 本研究のまとめ

(倫理面の配慮)

本研究においては、樹立培養細胞株を使用する。遺伝子実験の必要性が出た場合に関しては、大学を含む各施設における組換えDNA実験安全管理規則に則って行い、必要に応じて所属研究機関の関連委員会に計画を申請、審査を受けた上で研究を進める。動物実験を行う場合には、動物愛護の観点から、実験動物に無用の苦痛を与える実験計画を避け、動物に対する苦痛が最小となるように努め、所属研究機関の関連委員会の承認を得る。また、ヒト由来試料を用いて研究する場合は、各研究者の所属施設の倫理委員会の承諾を得るものとする。

通達「ナノマテリアル製造・取扱い作業現場における当面のばく露防止のための予防的対応について」（厚生労働省労働基準局，基発第0207004号，平成20年2月7日）に基づいて，実験環境管理を行う。

D. 研究発表

1. 論文発表

1. [Hayashi K](#), Kato N, Kato M, Ishikawa K. Impacts of channel direction on bone tissue engineering in 3D-printed carbonate apatite scaffolds. *Mater Des*, 2021 DOI: 10.1016/j.matdes. 2021.109686.
2. Sakemi Y, [Hayashi K](#), Akira Tsuchiya A, Nakashima Y, Ishikawa K. Reconstruction of critical-size segmental defects in rat femurs using carbonate apatite honeycomb scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, 2021. DOI: 10.1002/jbm.a.37157.
3. [Hayashi K](#), Ishikawa K. Honeycomb scaffolds fabricated using extrusion molding and sphere packing theory for bone regeneration. *ACS Appl Bio Mater*, 4(1), 721-730, 2021.
4. Kim H, Röth D, Isoe Y, [Hayashi K](#), Mochizuki C, Markus K, Nakamura M. Protein corona components of polyethylene glycol-conjugated organosilica nanoparticles modulates macrophage uptake. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 199, 111527, 2021.

5. [Hayashi K](#), Ishikawa K. Effects of nanopores on the mechanical strength, osteoclastogenesis, and osteogenesis in honeycomb scaffolds. *J Mater Chem B*, 8(37), 8536-8545, 2020.
6. Nakamura M, [Hayashi K](#), Nakamura J, Mochizuki C, Murakami T, Miki H, Ozaki S, Abe M. Near-infrared fluorescent thiol-organosilica nanoparticles that are functionalized with IR-820 and their applications for long-term imaging of in situ labeled cells and depth-dependent tumor in vivo imaging. *Chem Mater*, 32(17), 7201-7214, 2020.
7. Putri TS, [Hayashi K](#), Ishikawa K. Fabrication of three-dimensional interconnected porous blocks composed of robust carbonate apatite frameworks. *Ceram Int*, 46(12), 20045-20049, 2020.
8. [Hayashi K](#), Tokuda A, Nakamura J, Sugawara-Narutaki A, Ohtsuki C. Tearable and fillable composite sponges capable of heat generation and drug release in response to alternating magnetic field. *Mater*, 13(16), 3637, 2020.
9. Swe TT, Shariff KA, Mohamad H, Ishikawa K, [Hayashi K](#), Bakar MHA. Behavioural response of cells and bacteria on single and multiple doped Sr and Ag S53P4 sol-gel bioglass. *Ceram Int*, 46(11), 17881-17890 2020.
10. [Hayashi K](#), Munar ML, Ishikawa K. Effects of macropore size in carbonate apatite honeycomb scaffolds on bone regeneration. *Mater Sci Eng C-Mater Biol Appl*, 111, 110848, 2020.
11. Yamakawa D, Katoh D, Kasahara K, Shiromizu T, Matsuyama M, Matsuda C, Maeo Y, [Watanabe M](#), Inagaki M. Primary cilia dependent-lipid rafts/caveolin dynamics regulate adipogenesis. *Cell Rep*, 34(10), 108817, 2021.
12. [Totsuka Y](#), [Watanabe M](#), Lin Y. New horizons of DNA adductor for exploring environmental causes of cancer. *Cancer Sci*, 112(1), 7-15, 2021.
13. Kajiwarra S, Ishii K, Sasaki T, Kato M, Nishikawa K, Kanda H, Arima K, [Watanabe M](#), Sugimura Y. Castration-induced stromal remodeling disrupts the reconstituted prostate epithelial structure. *Lab Invest*, 100(5), 670-681, 2020.
14. Yamamoto N, Eguchi A, Hirokawa Y, Ogura S, Sugimoto K, Iwase M, [Watanabe M](#), Takei Y. Expression pattern of PLXDC2 in human hepatocellular carcinoma. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*. 39(2), 57-60, 2020.
15. Mahmud MRA, Ishii K, Bernal-Lozano C, Delgado-Sainz I, Toi M, Akamatsu S, Fukumoto M, [Watanabe M](#), Takeda S, Cortes-Ledesma F, Sasanuma H. TDP2 suppresses genomic instability induced by androgens in the epithelial cells of prostate glands. *Genes to Cells*, 00, 1-16, 2020.

16. Sonoda Y, Sasaki Y, Gunji A, Shirai H, Araki T, Imamichi S, Onodera T, Rydén AM, Watanabe M, Itami J, Honda T, Ashizawa K, Nakao K, Masutani M. Reduced tumorigenicity of mouse ES cells and the augmented anti-tumor therapeutic effects under Parg deficiency. *Cancers*, 12(4), 1056, 2020.
17. Mizutani K, Shirakami E, Ichishi M, Matsushima Y, Umaoka A, Okada K, Yamaguchi Y, Watanabe M, Morita E, Yamanaka K. Long-lasting severe dermatitis affect visceral adipose tissue via skin-derived inflammatory cytokines. *Int J Med Sci*, 21, 3367, 2020.
18. Kanayama K, Imai H, Usugi E, Matsuda C, Ichishi M, Hirokawa Y, Watanabe M. Cancer-related gene mutations and intratumoral genetic heterogeneity in human epidermal growth factor receptor 2 heterogeneous gastric cancer. *Pathol Int*, 70(11), 865-870, 2020.
19. Hirokawa YS, Kanayama K, Kagaya M, Shimojo N, Uchida K, Imai H, Ishii K, Watanabe M. SOX11-induced decrease in vimentin and an increase in prostate cancer cell migration attributed to cofilin activity. *Exp Mol Pathol*, 117, 104642, 2020
20. Wakai E, Suzumura Y, Ikemura K, Mizuno T, Watanabe M, Takeuchi K, Nishimura Y. An integrated in silico and in vivo approach identifies protective effects of palonosetron in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Pharmaceuticals*, 13,480, 2020.
21. Lu KT, Yamamoto T, McDonald D, Li W, Tan M, Moi ML, Park EC, Yoshimatsu K, Ricciardone M, Hildesheim A, Totsuka Y, Nanbo A, Putcharoen O, Suwanpimolkul G, Jantarabenjakul W, Paitoonpong L, Handley G, K. Bernabe G, Noda M, Sonoda M, Brennan P, Griffin DE,, Kurane I. U.S.-Japan cooperative medical sciences program: 22nd International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. *Virol*, 555, 71-77, 2021.
22. Totsuka Y, Maesako Y, Ono H, Nagai M, Kato M, Gi M, Wanibuchi H, Fukushima S, Shiizaki S, Nakagama H. Comprehensive analysis of DNA adducts (DNA adductome analysis) in the liver of rats treated with 1,4-dioxane. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 96, 180-187, 2020.
23. Tajima Y, Toyoda T, Hirayama Y, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Novel *o*-Toluidine Metabolite in Rat Urine Associated with Urinary Bladder Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol*, 33, 1907-1914, 2020.
24. Kawanishi M, Yoneda R, Totsuka Y, Yagi T. Genotoxicity of micro- and nano-particles of kaolin in human primary dermal keratinocytes and fibroblasts. *Genes Environ*, 42, 16, 2020.
25. Mimaki S, Watanabe M, Kinoshita M, Yamashita R, Haeno H, Takemura S, Tanaka S, Marubashi S, Totsuka Y, Shibata T, Nakagama H, Ochiai A, Nakamori S, Kubo S, Tsuchihara K. Multifocal origin of occupational cholangiocarcinoma revealed by comparison of multilesion mutational profiles. *Carcinogenesis*, 41, 368-376, 2020.
26. Hojo M, Yamamoto Y, Sakamoto Y, Maeno A, Ohnuki A, Suzuki J, Inomata A, Moriyasu T, Taquahashi Y, Kannno J, Hirose A, Nakae D. Histological sequence of the development of rat mesothelioma by MWCNT, with the involvement of apolipoproteins. *Cancer Sci*. 2021 Mar 4. doi: 10.1111/cas.14873.
27. Chinnathambi S, Hanagata N, Yamazaki T, Shirahata N. Nano-Bio Interaction between Blood Plasma Proteins and Water-Soluble Silicon Quantum Dots with Enabled Cellular Uptake and Minimal Cytotoxicity. *Nanomaterials*, 10(11), 2250, 2020.
28. Hayashi K, Kishida R, Tsuchiya A, Ishikawa K. Carbonate Apatite Micro-Honeycombed Blocks Generate Bone Marrow-Like Tissues as well as Bone. *Adv Biosys*, 3, 1900140, 2019.
29. Hayashi K, Kishida R, Tsuchiya A, Ishikawa K. Honeycomb blocks composed of carbonate apatite, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite for bone regeneration: effects of composition on biological responses. *Mater Today Bio*, 4, 100031, 2019.
30. Hayashi K, Munar ML, Ishikawa K. Carbonate apatite granules with uniformly sized pores that arrange regularly and penetrate straight through granules in one direction for bone regeneration. *Ceram Int*, 45, 15429-15434. 2019.
31. Shi R, Hayashi K, Bang LT, Ishikawa K. Effects of surface roughening and calcite coating of titanium on cell growth and differentiation. *J Biomater Appl*, 34, 917-927, 2019.
32. Ishikawa K, Arifta T, Hayashi K, Tsuru K. Fabrication and Evaluation of Interconnected Porous Carbonate Apatite from Alpha Tricalcium Phosphate Spheres. *J Biomed Mater Res B*, 107, 269-277, 2019.
33. Sakemi Y, Hayashi K, Tsuchiya A, Nakashima Y, Ishikawa K. Fabrication and Histological Evaluation of Porous Carbonate Apatite Block from Gypsum Block Containing Spherical Phenol Resin as a Porogen. *Materials*, 12, 3997, 2019.
34. Hayashi K, Munar L.M, Ishikawa K. Effects of macropore size in carbonate apatite honeycomb scaffolds on bone regeneration. *Mat Sci Eng C*, 111, 110848, 2020.
35. Hayashi K, Kishida R, Tsuchiya A, Ishikawa K.

- Granular Honeycombs Composed of Carbonate Apatite, Hydroxyapatite, and β -Tricalcium Phosphate as Bone Graft Substitutes: Effects of Composition on Bone Formation and Maturation. *ACS Appl Bio Mater*, 3, 1787-1795, 2020
36. Putri TS, Hayashi K, Ishikawa K. Bone regeneration using β -tricalcium phosphate (β -TCP) block with interconnected pores made by setting reaction of β -TCP granules. *J Biomed Mater Res A*, 108A, 625-632, 2020.
 37. 林幸壹朗, “骨髓様組織を形成するハニカムスキャフォールド” *BIO INDUSTRY*, シーエムシー出版, 2月号, 24-33, 2020.
 38. K.Ishii, T.Sasaki, K.Iguchi, M.Kato, H.Kanda, Y.Hirokawa, K.Arima, M.Watanabe, Y.Sugimura. Pirfenidone, an anti-fibrotic drug, suppresses the growth of human prostate cancer cells by inducing G1 cell cycle arrest. *J Clin Med*, 8(1), 44, 2019.
 39. E.Usugi, K.Ishii, Y.Hirokawa, K.Kanayama, C.Matsuda, K.Uchida, T.Shiraishi, M.Watanabe. Anti-fibrotic agent pirfenidone suppresses proliferation of human pancreatic cancer cells by inducing G0/G1 cell cycle arrest. *Pharmacology*, 103(5-6), 250-256, 2019.
 40. K.Kanayama, H.Imai, E.Usugi, T.Shiraishi, YS Hirokawa, M.Watanabe. Letter to the editor: reply to Antonio Ieni “Intratumor HER2 heterogeneity in early gastric carcinoma: potential bias in therapeutic management”. *Virchow Arch*, 474(3), 403-404, 2019.
 41. Mimaki S, Watanabe M, Kinoshita M, Yamashita R, Haeno H, Takemura S, Tanaka S, Marubashi S, Totsuka Y, Shibata T, Nakagama H, Ochiai A, Nakamori S, Kubo S, Tsuchihara K. Multifocal origin of occupational cholangiocarcinoma revealed by comparison of multilesion mutational profiles. *Carcinogenesis*. 2019 Jun 20.
 42. Gi M, Fujioka M, Totsuka Y, Matsumoto M, Masumura K, Kakehashi A, Yamaguchi T, Fukushima S, Wanibuchi H. Quantitative analysis of mutagenicity and carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in F344 gpt delta transgenic rats. *Mutagenesis*. 34 (3): 279-287, 2019.
 43. Totsuka Y, Lin Y, He Y, Ishino K, Sato H, Kato M, Nagai M, Elzawahry A, Totoki Y, Nakamura H, Hosoda F, Shibata T, Matsuda T, Matsushima Y, Song G, Meng F, Li D, Liu J, Qiao Y, Wei W, Inoue M, Kikuchi S, Nakagama H, Shan B. DNA Adductome Analysis Identifies N-Nitrosopiperidine Involved in the Etiology of Esophageal Cancer in Cixian, China. *Chem Res Toxicol*, 32 (8),1515-1527, 2019.
 44. Dertinger SD, Totsuka Y, Bielas JH, Doherty AT, Kleinjans J, Honma M, Marchetti F, Schuler MJ, Thybaud V, White P, Yauk CL. High Information Content Assays for Genetic Toxicology Testing: A Report of the International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT). *Mutation Res.* 847, 403022, 2019.
 45. Totsuka Y, Wakabayashi K. Biological significance of aminophenyl- β -carboline derivatives formed from co-mutagenic action of β -carbolines and aromatic amines and its effect on tumorigenesis in humans: A review. *Mutation Res.* 2019 in press.
 46. Imai K, Nakanishi I, Ohkubo K, Ohno A, Mizuno M, Fukuzumi S, Matsumoto K, Fukuhara K. Synthesis and Radical-Scavenging Activity of C-Methylated Fisetin Analogues. *Bioorg. Med. Chem.*, 27 (8), 1720–1727, 2019.
 47. Hayashi K, Tokuda A, Sakamoto W. Hydroxyl Radical-Suppressing Mechanism and Efficiency of Melanin-Mimetic Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(8), E2309, 2018.
 48. Hayashi K, Yamada S, Sakamoto W, Usugi E, Watanabe M, Yogo T. Red Blood Cell-Shaped Microparticles with a Red Blood Cell Membrane Demonstrate Prolonged Circulation Time in Blood. *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 4, 2729-2732, 2018.
 49. Hayashi K, Hayashi H, Yamada S, Sakamoto W, Yogo T. Cellulose-based molecularly imprinted red-blood-cell-like microparticles for the selective capture of cortisol. *Carbohydr. Polym.*, 193, 173-178, 2018.
 50. E.Fukai E, H.Sato H, M.Watanabe M, Nakae D, Tostuk Ya. Establishment of an in vivo simulating co-culture assay platform for genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes. *Cancer Sci.*, 109(4), 1024-1031, 2018.
 51. Ishii K, Takahashi S, Sugimura Y, Watanabe M. Role of stromal paracrine signals in proliferative diseases of the aging human prostate. *J. Clin. Med.*, 7(4), 7, 68, 20168
 52. Lee GW, Par JB, Park SY, Seo J, Shin SH, Park JW, Kim SJ, Watanabe M, Chun YS. The E3 ligase C-CBL inhibits cancer cell migration by neddylation of the proto-oncogene c-Src. *Oncogene*, 37(41), 5552-5568, 2018.
 53. Fujiwara Y, Nishida M, Saito M, Robles AI, Takeshita F, Watanabe M, Ochiya T, Yokota J, Kohno T, Harris CC, Tsuchiya N. A nucleolar stress-specific p53-miR-101 molecular circuit functions as an intrinsic tumor-suppressor network. *EBioMedicine*, 33, 33-48, 2018.
 54. Kudo Y, Sasaki Y, Onodera T, Hashimoto J, Nozaki T, Tamura K, Watanabe M, Masutani M. Measurement of poly(ADP-ribose) level with enhanced slot blot assay with crosslinking. *Challenges*,9(2), 27, 2018.
 55. Nishimura Y, Kasahara K, Shiromizu T, Watanabe M, Inagaki M. Primary cilia as

- signaling hubs in health and disease. *Adv. Sci.*, 16(1), 1801138, 2018.
56. Toyoda T, Totsuka Y, Matsushita K, Morikawa T, Miyoshi N, Wakabayashi W, Ogawa K. γ -H2AX formation in the urinary bladder of rats treated with two norharman derivatives obtained from o-toluidine and aniline. *J. Appl. Toxicol.*, 38(4), 537-543, 2018.
 57. Sakamoto Y, Hojo M, Kosugi Y, Watanabe K, Hirose A, Inomata A, Suzuki T, Nakae D. Comparative study for carcinogenicity of 7 different multi-wall carbon nanotubes with different physicochemical characteristics by a single intraperitoneal injection in male Fischer 344 rats. *J. Toxicol. Sci.*, 43(10), 587-600, 2018.
- ## 2. 学会発表
1. 林幸壺朗、石川邦夫. 「炭酸アパタイトハニカムスキャホールドの骨誘導能評価」、日本歯科理工学会 第75回学術講演会
 2. Hayashi K. Impacts of pore architecture on bone regeneration in honeycomb scaffolds, KOB & OBT Research Center Joint International Symposium, Feb. 6, 2021, Fukuoka. 受賞講演
 3. Oshio L, Nakagawa Y, Watanabe M, Iijima K. Functional analysis of microRNA in anti-prostate cancer activity of magnetic iron oxide nanoparticles. 第 43 回日本分子生物学会年会. オンライン 12.2-4, 2020.
 4. Inagaki M, Kasahara K, Yamakawa D, Matsuda C, Watanabe M. The role of primary cilia in cell growth, differentiation and tumorigenesis. 第 79 回日本癌学会学術総会. リーガロイヤルホテル広島. 10.1-3, 2020.
 5. Watanabe M. The application of nanomaterial in anti-tumor drugs. China-ASEAN International Cancer Precision Medicine Conference. Guangxi Medical University. 11.6-8, 2020.
 6. 戸塚ゆ加里 NGSによるノンバイアスな変異解析の現状と将来展望 第 47 回日本毒性学会学術年会シンポジウム (2020 年 6 月 Web 開催)
 7. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによるがんの要因解明と予防研究への展望 がん予防学術大会 (2020 年 9 月 Web 開催)
 8. 戸塚ゆ加里 Prospects for elucidating the cancer etiology and prevention by multidisciplinary approach 第 79 回癌学会 (2020 年 10 月、広島)
 9. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによりがんの要因を解明する 第 2 回 三陸包括的緩和医療研究会 (2020 年 10 月 Web 開催)
 10. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによるがんの要因解明と予防研究への展望 第 49 回 環境変異原学会 (2020 年 9 月、静岡)
 11. 戸塚ゆ加里 発がん性評価法としての DNA アダクトーム解析の展望 第 37 回 日本毒性病理学会 (2021 年 1 月、Web 開催)
 12. 戸塚ゆ加里 発がん性評価法としての DNA アダクトーム解析の展望 第 12 回 JBF シンポジウム (2021 年 3 月、Web 開催)
 13. Hojo M, Yamamoto Y, Sakamoto Y, Maeno A, Hasegawa Y, Yuzawa K, Kubo Y, Nagasawa A, Yano N, Ohnuki A, Inomata A, Moriyasu T, Hirose A, Nakae D. Histopathological features during development of the peritoneal mesothelioma in F344 rats administered multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) and a potential relationship between its pathogenesis and serum levels of apolipoproteins. EUROTOX 2020 (2020 年 9 月 6-9 日, デンマーク王国コペンハーゲン市).
 14. 穴戸健太, 煙山紀子, 政所陽菜, 小川絢子, 小川秀治, 阿部有加里, 山口彩音, 宇野絹子, 美谷島克宏, 中江大. 3D ヒト皮膚再構成系による folpet の経皮毒性評価法の検討. 第 47 回日本毒性学会学術年会 (2020 年 6 月 29 日~7 月 1 日, リモート開催).
 15. 前野愛, 北條幹, 坂本義光, 湯澤勝廣, 長谷川悠子, 久保喜一, 長澤明道, 安藤弘, 田中和良, 海鉦藤文, 生嶋清美, 山本行男, 鈴木俊也, 猪又明子, 守安貴子, 高橋祐次, 横田 理, 小林憲弘, 広瀬明彦, 中江大. ラットによる多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の長期気管内反復投与試験: 1 年経過時点における報告. 第 47 回日本毒性学会学術年会 2020 年 6 月 29 日~7 月 1 日, リモート開催).
 16. 坂本義光, 北條幹, 前野愛, 鈴木俊也, 猪又明子, 守安貴子, 広瀬明彦, 中江大. 多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の長期反復気管内投与ラットにおける肺神経内分泌細胞(PNEC)の増生. 第 47 回日本毒性学会学術年会 (2020 年 6 月 29 日~7 月 1 日, リモート開催).
 17. 穴戸健太, 煙山紀子, 小川秀治, 大西未悠, 桑原みなみ, 波多野遥子, 渡邊 厚, 佐野龍平, 美谷島克宏, 中江大. 金属ナノ粒子の経皮遺伝毒性に関する新規 *in vitro* 評価系の構築. 第 37 回日本毒性病理学会総会および学術集会 (2021 年 1 月 28 日~2 月 26 日, リモート開催).
 18. Hojo M, Yamamoto Y, Sakamoto Y, Ohnuki A, Maeno A, Moriyasu T, Taquahashi Y, Kannno J, Hirose A, Nakae D. Declines serum levels of apolipoproteins during the development of peritoneal mesothelioma by multiwalled carbon nanotube in rats. Virtual 2021 Society of Toxicology (SOT) Annual Meeting and ToxExpo

- (2021年3月12-26日, リモート開催).
19. 大野彰子, 渡邊昌俊, 広瀬明彦: 多変量解析を用いたナノマテリアルの毒性評価手法の開発, 第47回日本毒性学会学術集会 (2020.6.29-7.1, web開催)
 20. Fukuhara K, Ohno A. Generation of reactive oxygen species following photoirradiation of nitromusks, 260th ACS National Meeting (August 16-20, 2020, virtual meeting)
 21. Ohno A, Watanabe M, Hirose A. Application to toxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles based on physicochemical properties using multivariate analysis method, 260th ACS National Meeting (August 16-20, 2020, virtual meeting)
 22. 西田明日香, 足利太可雄, 大野彰子, 飯島一智: 銀ナノ粒子の抗原提示細胞活性化能の解析, 日本動物実験代替法学会 第33回大会 (2020.11.12, web開催)
 23. Iijima K, Nishida A, Ohno A, Ashikaga T. Comparison of Sensitization Potentials between Silver Nanoparticles and Silver Ions using Monocytic Cell Line THP-1, SOT 60th Annual Meeting and ToxExpo (March 15-18, 2021, virtual meeting)
 24. 大野彰子, 沖山 佳生, 広瀬 明彦, 福原 潔: ニトロ多環芳香族炭化水素の構造と変異原性に関するドッキングスタディ, 日本薬学会第141年会 (2021.3.26-3.29, web開催)
 25. 福原 潔, 中西郁夫, 大久保敬, 今井耕平, 水野美麗, 松本謙一郎, 大野彰子: C-メチルフィセチンのラジカル消去作用, 日本農芸化学会2021年度大会 (2021.3.18-3.21, web開催)
 26. 鱒川雅花, 多田智彦, 徳村雅弘, 王齊, 三宅祐一, 雨谷 敬史, 牧野 正和. ConsExpo nanoを用いたスプレー製品中ナノマテリアルの曝露量推定における曝露パラメータの影響評価, 2020年室内環境学会学術大会, 郡山. (2020年12月)
 27. M.Watanabe, S.Takahashi, E.Usugi, K.Ishii, Y.Hirokawa. Crosstalk between apoptosis and autophagy induced by docetaxel-magnetic nanoparticles with different surface in prostate cancer cells. AACR annual meeting 2019, March.30-April.3, 2019, Atlanta.
 28. K.Ishii, I.Matsuoka, T.Sasaki, M.Kato, K.Nishikawa, H.Kanda, Y.Hirokawa, K.Iguchi, K.Arima, M.Watanabe, Y.Sugimura. Loss of fibroblasts-dependent androgen receptor activation in prostate cancer cells develops castration-resistant prostate cancer. AACR annual meeting 2019, March.30-April.3, 2019, Atlanta.
 29. 渡邊昌俊. 酸化鉄ナノ粒子はドキシソルビシンの前立腺癌細胞への細胞毒性に対してパラドキシカルな影響を示す. 第108回日本病理学会総会, 東京国際フォーラム, 2019年5月.
 30. 渡邊昌俊, 中野洋.カーボンナノチューブ曝露における癌細胞株のmicroRNA網羅的発現解析.第66回日本臨床検査医学会学術集会, 岡山コンベンションセンター, 2019年11月.
 31. 渡邊昌俊. 腫瘍に対するビオミメテジクスなマテリアルのプラットフォーム構築. 第9回日本泌尿器病理研究会学術集会, 日本橋ライフサイエンスビル, 東京, 2020年2月.
 32. 渡邊昌俊, 上村博司. 前立腺癌の遊走・浸潤へのZyxinの関与について.第78回日本癌学会学術総会, 国立京都国際会館, 2019年9月.
 33. 中川泰久, 石井健一朗, 藤原雅也, 臼杵恵梨, 広川佳史, 杉村芳樹, 渡邊昌俊. 粘性基質上培養でのヒト前立腺癌細胞と線維芽細胞の3次元構造形成に関わる評価. 第78回日本癌学会学術総会, 国立京都国際会館, 2019年9月.
 34. 大塩里紗, 中川泰久, 渡邊昌俊, 飯島一智. 磁性体ナノ粒子の抗前立腺癌活性におけるmiRNA発現の解析.第78回日本癌学会学術総会, 国立京都国際会館, 2019年9月.
 35. 臼杵恵梨, 石井健一朗, 広川佳史, 金山和樹, 松田知世, 渡邊昌俊. 抗線維化薬ピルフェドニンは細胞周期のG0/G1期停止を誘導することによってヒト膀胱癌細胞の増殖を抑制する. 第78回日本癌学会学術総会, 国立京都国際会館, 2019年9月.
 36. Totsuka Y. Exploration of Esophageal Cancer Etiology using DNA Adductome Analysis, 6th ACEM-48th JEMS (東京, 2019年11月)
 37. Iwamura K, Shimada H, Matsuda T, Kato M, Elzawahry A, Nagai M, Endo O, Totsuka Y. Whole genome sequencing analysis elucidates the association between environmental factors and human cancer development. 6th ACEM-48th JEMS (東京, 2019年11月)
 38. Ono H, Nagai M, Narushima D, Hamamoto R, Totsuka Y, Kato M. Detection of DNA adducts by nanopore sequencing using deep learning. 6th ACEM-48th JEMS (東京, 2019年11月)
 39. Totsuka Y. Whole genome sequencing analysis elucidates the association between environmental factors and human cancer development, 日本癌学会学術総会シンポジウム. (京都, 2019年9月)
 40. Totsuka Y. Exploration of Esophageal Cancer Etiology using Comprehensive DNA Adduct

Analysis (DNA Adductome Analysis) 2nd Hebei International Forum on Theory and Practice of Cancer Prevention and Control (石家荘、2019年7月)

41. Totsuka Y. How Adductomics Can Inform Cancer Etiology, Mutgraph meeting (リヨン、2019年7月)
42. 戸塚ゆ加里. ナノマテリアルの遺伝毒性評価の動向 —JRC 会議に参加して— MMS 定例会 (京都、2019年6月)
43. 戸塚ゆ加里. 発がん性評価法としての DNA アダクトーム解析の展望 日本毒性学会シンポジウム (徳島、2019年6月)
44. 政所陽菜, 煙山紀子, 小川絢子, 小川秀治, 阿部有加里, 高臨風, 山口彩音, 宇野絹子, 龍完次朗, 美谷島克宏, 中江 大. ヒト 3D 皮膚再構成系による folpet の経皮毒性評価法の検討. 第 36 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2020年2月13日, 東京都世田谷区).
45. 小川秀治, 煙山紀子, 大西未悠, 橋口ゆり, 浦崎涼子, 美谷島 克宏, 中江 大. ヒト3D皮膚再構成系を用いた金属ナノマテリアルの経皮膚毒性評価. 第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2020年2月14日, 東京都世田谷区).
46. 大野彰子、山田隆志、広瀬明彦. 「データベースを活用した神経毒性の *in silico* 予測手法の開発」第 46 回日本毒性学会学術年会 (徳島、2019年6月)
47. 福原 潔, 今井耕平, 中西郁夫, 大久保 敬, 大野彰子, 水野美麗, 福住俊一. 「C-メチルフィセチンのラジカル消去活性」第 72 回日本酸化ストレス学会学術集会 (北海道、2019年6月)
48. 福原 潔、中西郁夫、今井耕平、松本謙一郎、大野彰子. 「鉄錯体形成をトリガーとした新規抗酸化物質の開発」第 43 回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 (京都、2019年9月)
49. 大野彰子、渡邊昌俊、広瀬明彦. 「多変量解析手法を用いた二酸化チタンナノ粒子の物理化学的性状に基づく毒性評価への応用」 (京都、2020年3月)
50. 福原 潔、中西郁夫、大久保敬、今井耕平、水野美麗、松本謙一郎、大野彰子. 「C-メチルフラボノイドのラジカル消去作用」日本農芸化学会 2020 年度大会 (東京、2020年3月)
51. Fukuhara K., Imai K., Nakanishi I, Matsumoto K., Ohno A. Planar catechin conjugated with DTPA as a promising antioxidant triggered by Fe³⁺ coordination, 258th ACS National Meeting, (August, 2019, San Diego, USA)
52. 大野彰子. 「薬学研究分野 (医薬品・食品・化学物質) への多変量解析法の活用例」 Umetrics 日本ユーザー会 2019 (東京国際フォーラム、2019年12月)
53. Kojima K, Takahashi S, Saito S, Nittami T, Usugi E, Ishii K, Hirokawa Y, Watanabe M. Magnetic iron oxide nanoparticles induce apoptosis and autophagic cell death in prostate cancer cells treated with docetaxel via ROS generation and NF-KB signaling. AACR annual meeting 2018, April.14-18, 2018, Chicago.
54. Takahashi S, Saito S, Nittami T, Totsuka Y, Nakagawa Y, Watanabe M. MicroRNAs profiling of cancer cells after Fe₃O₄ nanoparticles exposure (II). 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪国際会議場, 2018年9月.
55. Saito S, Takahashi S, Nittami T, Totsuka Y, Nakagawa Y, Watanabe M. Establishment of the substra made of tissue/ organ sections for histopathology nbased systems for nanotoxicity. 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪国際会議場, 2018年9月.
56. Chum YS, Park JB, Lee G, Park SY, Watanabe M. Activation of c-Src by neddylation blockade enhanced cancer cell migration through Akt signaling pathway.第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪国際会議場, 2018年9月.
57. Ishii K, Kajiwara S, Iguchi K, Kato M, Hirokawa Y, Arima K, Watanabe M, Sugimura Y. Characterization of human prostate cancer LNCaP sublines differing in androgen-sensitivity. 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪国際会議場, 2018年9月.
58. Kato M, Ishii K, Kajiwara S, Hirokawa Y, Arima K, Watanabe M, Sugimura Y. Fibroblasts disturb the expression of cancer-related genes in non-transformed human prostatic epithelial cell line BPH-1. 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪国際会議場, 2018年9月.
59. Ishii K, Matsuoka I, Sasaki T, Kato M, Nishikawa K, Kanda H, Hirokawa Y, Iguchi K, Arima K, Watanabe M, Sugimura Y. Loss of fibroblasts-dependent androgen receptor activation in prostate cancer cells develops castration-resistant prostate cancer. AACR annual meeting 2019, March.29-April.3, Atlanta.
60. Watanabe M, Takahashi S, Usugi E, Ishii K, Hirokawa Y. Crosstalk between apoptosis and autophagy induced by docetaxel-magnetic nanoparticles with different surface in prostate cancer cells. AACR annual meeting 2019, March.29-April.3, Atlanta.

61. Totsuka Y. Exploration of cancer etiology using genome analysis and comprehensive DNA adduct analysis. 18th All India Congress of Cytology and Genetics (コルカタ、2018年1月)
62. 戸塚ゆ加里、秋場 望、佐藤春菜、前迫有也、松田知成、加藤 護、アスマ・エルザワハリ、十時 泰、柴田龍弘、中釜 斉. 全ゲノム解析データを用い、化学物質のヒト発がんへの関与を明らかにする 第33回発がん病理研究会 (御殿場、2018年8月)
63. 三好規之、田島悠也、豊田武士、戸塚ゆ加里、松下幸平、小川久美子、若林敬二. 芳香族アミン類の代謝物分析とDNA付加体 第33回発がん病理研究会 (御殿場、2018年8月)
64. Totsuka Y., Matsuda T, Kato M, Elzawahry A, Totoki Y, Shibata T, Nakagama H. Whole genome sequencing analysis elucidates the interaction between environmental factors and causes of human cancer. 第77回日本癌学会総会 (大阪、2018年9月)
65. 戸塚ゆ加里、佐藤春菜、松田知成、加藤 護、アスマ・エルザワハリ、遠藤 治. 全ゲノム解析データを用い、化学物質のヒト発がんへの関与を明らかにする 第47回日本環境変異原学会 (京都、2018年11月)
66. 佐藤 春菜、落合雅子、今井俊夫、戸塚ゆ加里. マウス正常組織由来オルガノイドを用いた遺伝毒性解析法の構築 第47回日本環境変異原学会 (京都、2018年11月)
67. 前迫侑也、椎崎一宏、高村岳樹、戸塚ゆ加里. 職業性胆管がん発生に関与する1,2-ジクロロプロパンのDNA付加体の網羅的な解析 (アダクトーム解析) 第47回日本環境変異原学会 (京都、2018年11月)
68. 神尾翔真、渡邊昌俊、椎崎一宏、戸塚ゆ加里. ナノマテリアルの表面修飾が及ぼす遺伝毒性への影響 第47回日本環境変異原学会 (京都、2018年11月)
69. 斎藤春吾、渡邊昌俊、戸塚ゆ加里. ナノマテリアル毒性評価のための組織切片担体を用いたシステムの確立 第47回日本環境変異原学会 (京都、2018年11月)
70. 石野孔祐、前迫侑也、内藤善哉、戸塚ゆ加里. 質量分析データに基づくDNA付加体データベースの整備 第47回日本環境変異原学会 (京都、2018年11月)
71. 坂本義光、北條 幹、鈴木俊也、猪又明子、守安貴子、広瀬明彦、中江 大. 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) を単回経気管噴霧投与した後終生飼育したラットの肺および中皮組織における増殖性病変の発生. 第45回日本毒性学会学術年会 (2018年7月19日、大阪府大阪市) .
72. 北條 幹、小林憲弘、長谷川悠子、安藤 弘、久保喜一、海鉾藤文、田中和良、五十嵐海、村上詩歩、多田幸恵、生嶋清美、湯澤勝廣、坂本義光、前野 愛、鈴木俊也、猪又明子、守安貴子、高橋祐次、広瀬明彦、中江 大. 多層カーボンナノチューブのマウス気管内投与による発生毒性と肺の炎症との関連性. 第45回日本毒性学会学術年会 (2018年7月19日、大阪府大阪市) .
73. Hojo M, Kobayashi N, Hasegawa Y, Y. Sakamoto Y, S. Murakami S, Y. Yamamoto Y, Tada Y, Maeno A, Kubo Y, Ando H, Shimizu M, Taquahashi Y, Suzuki T, Nakae D. Hirose A. Relationship between developmental toxicity of multi-wall carbon nanotubes and lung inflammation in pregnant mice after repeated intratracheal instillation. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018) (2018年9月2日, Belgium 王国 Brussels 市) .
74. 坂本義光、多田幸恵、北條 幹、前野 愛、鈴木俊也、猪又明子、守安貴子、中江 大. ラットにおいてDHPNで誘発されたメソテリン陽性肺増殖性病変の病理組織化学的性状. 第35回日本毒性病理学会学術集会 (2019年2月1日、東京都江戸川区) .
75. 前野 愛、坂本義光、北條 幹、湯澤勝廣、長谷川悠子、鈴木俊也、猪又明子、守安貴子、煙山紀子、美谷島克宏、中江 大. 高齢F344ラットに自然発生した退形成ジンバル腺癌 (anaplastic Zymbal's gland carcinoma) を疑う2例. 第35回日本毒性病理学会学術集会 (2019年1月31日、東京都江戸川区) .
76. 福原 潔、今井耕平、中西郁夫、松本謙一郎、大野彰子. 金属イオン配位により活性化する抗酸化物質の開発、日本農芸化学会 2019年度大会、東京 (2019.3)
77. 福原 潔、今井耕平、中西郁夫、松本謙一郎、大野彰子. 金属錯体形成をトリガーとした新規抗酸化物質の開発:、第36回メディシナルケミストリーシンポジウム、京都 (2018.11)
78. Fukuhara K, Arai T, Ohno A. Mori K, Shibamura M, Miyata N, Nakagawa H. Potential lead compounds for the treatment of Alzheimer's disease: a peptide that blocks amyloid β induced neurotoxicity, ACS Fall 2018 National Meeting, Boston, 2018 August 19
79. Yamada T, Kurimoto M, Miura M, Kawamura T, Jojima K, Taira N, Ohata H, Tsujii S, Ohno A. Hirose A. Establishing mechanistic key event

information of repeated dose toxicity to support category-based read-across assessment. 58th Annual Meeting of Society of Toxicology (March 2019, Baltimore, USA)

E.知的所有権の取得状況

1. 特許取得
 1. 発明の名称：医用ハニカム構造体およびその製造方法、医用組織再建袋、成型型。発明者：石川 邦夫、林 幸壺朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴。出願人：石川邦夫、株式会社ジーシー。国際出願番号：PCT/JP2021/008783 出願日：2021.3.5.
 2. 発明の名称：医用ハニカム構造体およびその製造方法、医用組織再建袋、成型型。発明者：石川 邦夫、林 幸壺朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴。出願人：石川邦夫。出願番号：特願2021-034784。出願日：2021.3.4.
 3. 発明の名称：炭酸アパタイト被覆材料およびその製造方法。発明者：石川 邦夫、林 幸壺朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴。出願人：石川邦夫。出願番号：特願2021-56520。出願日：2021.3.30.
 4. 発明の名称：医用ハニカム構造体、成型型、および製造方法、発明者：石川 邦夫、林 幸壺朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴、特願 2020-38167、出願日：2020.3.5
 5. 発明の名称：炭酸アパタイト被覆材料およびその製造方法、発明者：石川 邦夫、林 幸壺朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴、特願 2020-063503、出願日：2020.3.31
2. 実用新案登録
なし
3. その他
 1. 2020年度 九州大学歯学優秀研究者賞，九州大学，2021年1月.
 2. 日本歯科理工学会 第75回学術講演会 株式会社ジーシー賞受賞，2020年4月.