

島根大学プロジェクト研究推進機構 『重点研究部門』		平成22年度	年度報告書	提出日 平成23年2月14日
①プロジェクト名		S-匠ナノメディシンプロジェクト		
②プロジェクトリーダー		藤田 恭久	所属	総合理工学部
			電子メール	fujita@ecs.shimane-u.ac.jp
③ プロジェクトの概要 (プロジェクトの最終年度における到達目標を簡潔に記入してください。)				
<p>本研究プロジェクトの目的は島根大学の第一期重点研究プロジェクトの特色ある研究成果をもとに医理工農分野の連携をさらに進め、地域での展開が可能な新しいナノ医療技術を開発し、地域課題の解決に向けた国際水準の研究拠点を形成することである。本プロジェクトでは、以下の五つのテーマの研究を実施し、安全、安価で高機能な島根大学発の蛍光標識剤と薬物送達システムの開発及び診断・治療の基礎技術開発を行い、本学内ナノテク教育研究センターの設立とがんの早期診断・治療等の新しい臨床応用開発へ展開する。</p> <p><b>A. 酸化亜鉛:</b> 酸化亜鉛ナノ粒子による蛍光標識を用いたがんなどの非侵襲的早期診断技術を開発する。</p> <p><b>B. ナタデココ:</b> ナタデココをバッファに用いたマイクロ流路電気泳動による創傷の診断、抗菌剤含有ナタデココによる治療技術、ナタデココを用いたスキンケア技術を開発する。</p> <p><b>C. ハイドロジェル:</b> 温度や磁気などの条件を非侵襲的に体外から操作して薬剤などを目的の部位で放出できる特徴を利用して、安全性の高い薬物送達システムを創生し、がんなどに対する新たな診断治療戦略を開発する。</p> <p><b>D. 新規ナノ材料:</b> 超音波診断やアルツハイマー病などの早期診断技術への適用を目指した圧電性や光触媒性をもつ新規ナノ材料や近赤外蛍光物質を開発する。</p> <p><b>E. 安全性評価:</b> 本研究プロジェクトで用いるナノ材料の安全性を評価する。</p>				
④ プロジェクトのメンバー及び役割				
氏名	所属(職)	本年度の役割分担		
(プロジェクトリーダー) 藤田 恭久	総合理工学部(教授)	プロジェクト総括		
(酸化亜鉛 Gr.) 藤田 恭久 O. Senthilkumar 中村 守彦 平川 正人 磯部 威 宇田川 潤 廣光 一郎 田中 仙君	総合理工学部・電子制御システム工学科(教授) プロジェクト研究推進機構(研究員) 産学連携センター・地域医学共同研究部門(教授) 総合理工学部・数理・情報システム学科(教授) 医学部・内科学がん化学療法教育学講座・教授 医学部・発生生物学講座(准教授) 総合理工学部・物質科学科(教授) 総合理工学部・物質科学科(助教)	酸化亜鉛部総括、酸化亜鉛ナノ粒子の医療応用技術の開発(A1,A2,A3,B1,D2) 酸化亜鉛蛍光ナノ粒子とハイドロジェルの合成及び複合材料作製(A1,A2,A3,C1) 酸化亜鉛ナノ粒子の抗体標識による蛍光標識剤の開発と蛍光イメージング基礎的検討(A1,A2) 酸化亜鉛などのイメージングにおける画像情報解析(A1,A2,D2) 酸化亜鉛ナノ粒子によるがん診断の基礎技術開発(A2) 酸化亜鉛ナノ粒子を用いた可視化技術・診断技術の基礎開発(A2) 酸化亜鉛ナノ粒子を用いた新規可視化技術の基礎開発(A3) 酸化亜鉛ナノ粒子を用いた共鳴エネルギー移動技術の基礎開発(A3)		
(ナタデココ Gr.) 竹下 治男 中井 毅尚 関根 浄治 森 隆治	医学部・法医学講座・教授 総合理工学部・材料プロセス工学科・准教授 医学部・歯科口腔外科学講座・教授 プロジェクト研究推進機構・准教授	グループの総括、ナタデココの臨床医療応用(B1,B2) ナタデココペーパーポイントを用いた創傷の治療(B2, B3) ナタデココを用いた機能回復(B2) ナタデココ等臨床医療応用のアジア各国における需要調査(B3)		
(ハイドロジェル Gr.) 福田誠司 佐藤 守之 竹永 啓三 原田 守 浦野 健	医学系研究科 医科学専攻・准教授 総合理工学部・物質科学科・教授 医学部・生命科学講座・准教授 医学部・免疫学講座・教授 医学部・病態生化学講座・教授	ハイドロジェルを用いた分子標的薬剤の開発研究とグループ総括(C2,C1) 新規ハイドロジェルと酸化亜鉛蛍光標識剤の開発(C1,A1) ハイドロジェルを用いた難治性がん細胞に対する分子標的薬剤の開発(C2) ハイドロジェルを用いた難治性がん細胞に対する新たな免疫療法の開発(C2) ハイドロジェルと蛍光標識を用いた細胞内タンパク質動態に関する基礎的研究(C2,A2)		
(新規材料開発 Gr.) 秋重 幸邦 戴 中華 内田 伸恵 半田 真 長井 篤	教育学部(教授) プロジェクト研究推進機構(研究員) 医学部・がん放射線治療教育学・教授 総合理工学部(教授) 医学部・臨床検査医学講座(准教授)	グループの総括、チタン酸バリウム系圧電素子材料とナノ粒子の医療応用技術の開発(D1) チタン酸バリウム系医療応用材料の合成(D1) ナノ粒子を用いた診断・治療の基礎技術開発(D1,A2) 近赤外蛍光材料の開発とエネルギー移動の研究(D2,A3) 近赤外蛍光イメージングによるアルツハイマー病診断の基礎的検討(D2)		
(安全性評価 Gr.) 秋吉 英雄 山本 達之 頓宮 美樹	生物資源科学部・生物科学科・准教授 生物資源科学部・生命工学科・教授 総合科学研究支援センター・実験動物分野・助教	グループの総括、ナノ物質の安全性評価とイメージング(E1,A1,A2) ナノ物質の医用分光学的評価(E1,A1,A2) ナノ物質の安全性評価(E1)		

**⑤ (1) 本年度の研究計画目標の達成状況及び自己評価**

(本年度当初の計画書に書かれた内容に沿って、計画と達成目標を箇条書きにしてください。また、その達成目標の項目ごとにその達成状況を記入し、以下の基準に従って自己評価して下さい。A:目標以上に成果をあげた B:ほぼ目標通りの達成度で予定した成果をあげている C:計画より遅れ気味であるが年度末には目標達成が可能である D:年度末までに目標達成は不可能である。自己評価がB以外の場合には、その原因についても記載して下さい。2~3月に行う計画のため未執行の場合には評価を空欄にして下さい。)

計画と達成目標	達成状況と自己評価
<p><b>A-1. 酸化亜鉛蛍光標識剤の開発</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>抗体修飾可能な酸化亜鉛ナノ粒子をがんの蛍光画像診断への応用に最適化する。</li> <li>水に対する分散性の良好な、表面に官能基をもつ新規酸化亜鉛ナノ粒子の開発を行う。</li> <li>酸化亜鉛ナノ粒子を有機シリカに含有させる技術を確認し、分散と抗体修飾を可能とする。</li> </ul> <p><b>A-2. 酸化亜鉛ナノ粒子を用いた可視化技術・診断技術の基礎開発</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>酸化亜鉛標識抗体と蛍光画像解析による生体内がん細胞検出の基礎技術を開発する。</li> <li>酸化亜鉛標識抗体のマウス血管内注入および画像情報処理により、直径 1mm以下のヒト癌細胞巣のCTによる検出を目指し、診断への適用性を評価する。</li> <li>酸化亜鉛ナノ粒子を用いた MRI 分子標的イメージングの可能性を探る。</li> </ul> <p><b>A-3. 酸化亜鉛ナノ粒子を用いた新規可視化技術の基礎開発</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>昨年度開発した酸化亜鉛-ポルフィリン複合体新規発光材料の医療応用可能性を明らかにする。具体的には①複合体を生理食塩水に分散させた場合の発光特性の評価、②毒性評価、③光照射下での安定性評価、④量子収率の測定を行う。</li> <li>酸化亜鉛-ポルフィリン複合体の発光特性をさらに改善するため、酸化亜鉛の発光スペクトルとポルフィリンの吸収スペクトルとの重なりを増大させる。</li> </ul>	<p><b>A-1. (自己評価 A)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>抗体修飾可能な酸化亜鉛ナノ粒子の生理的条件下での分散性を向上させ、さらに粒径を均等化して蛍光画像診断へ最適化を計り、生体内のがん細胞を検出する技術を開発した。</li> <li>水への分散性が極めて高く、表面に抗体修飾可能な官能基をもつ新規酸化亜鉛ナノ粒子の開発を行った。</li> <li>酸化亜鉛ナノ粒子を有機シリカに含有させる技術を確認し、生理食塩水に 1.3wt%の分散液とチオール基をもつ粒子の合成に成功した。 (がん細胞の検出などに使える標識剤の開発ができた。)</li> </ul> <p><b>A-2. (自己評価 A)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>酸化亜鉛による抗体の標識法を確認し、蛍光画像解析により生体内のがん細胞を検出する技術を開発した。</li> <li>特願 2010-126562 酸化亜鉛-イソプロピルアルコール技術による、培養脂肪細胞の脂肪滴イメージング法を実施し良好な結果を得た。また、製品開発や食品応用へ進展した。</li> <li>タンパク質間相互作用状態を安価、簡便、短時間でリアルタイムに観察できる可視化技術を考案した。(特許出願準備中)</li> <li>酸化亜鉛標識抗体の代替として金コロイド標識抗体をマウス血管内に注入し、ヒト癌細胞巣のCTによる描出の可能性を示した。</li> <li>酸化亜鉛系ナノ粒子のMRI造影効果を確認した。</li> <li>注目する対象が背景に交り合い複数点在するような状況の下で、入力画像データから対象領域の部位を抽出し、また必要に応じて統合して扱うことができるようにするための技法を開発した。また、注目領域の画像的特徴を抽出するための手法について研究を進めた。 (臨床分野を含めた連携が進展し、産学連携への展開も進んだ。)</li> </ul> <p><b>A-3. (自己評価 B)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>①酸化亜鉛-ポルフィリン複合体は生理食塩水への分散性が極めて低く、発光測定は不可能だった。②急性毒性試験(マウス経口投与)において毒性はみられなかった。③325nmの紫外線レーザー照射下で少なくとも30分間は安定だった。④酸化亜鉛からポルフィリンに移動したエネルギーの60%が発光に使われていて、極めて高効率であることがわかった。</li> <li>酸化亜鉛の化学的合成法を工夫することにより、酸化亜鉛の発光スペクトルとポルフィリンの吸収スペクトルとの重なりを増大させることに成功した。一方、ポルフィリンの代わりに有機高分子を用いることでスペクトルの重なりを増大させることができ、酸化亜鉛からのエネルギー移動による有機高分子の発光強度増大も実現できた。</li> </ul>
<p><b>B-1. ナタデココの臨床医療応用</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>心筋梗塞等急性期疾患のマーカーとなりうるDNA分解酵素を用いて蛍光色素、ナタデココおよび酸化亜鉛の複合高感度DNA診断により、該疾患の超早期迅速判定システムを試行する。</li> </ul> <p><b>B-2. ナタデココペーパーポイントを用いた創傷の治療や機能回復</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ナタデココペーパーポイントの材料学的・生物学的評価を行い、作製法を確認する。</li> </ul> <p><b>B-3. ナタデココ臨床医療応用のアジア各国における需要調査</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>基礎研究結果を代表的国際誌(CORR またはJBJS)に掲載する。臨床試験を開始する。</li> </ul>	<p><b>B-1. (自己評価 B)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>マイクロ流路技術により DNase I の高感度迅速簡便定量が可能であることを確認した。</li> <li>酸化亜鉛などのナノ粒子添加によりエチジウムブロマイド(EtBr)の発光強度が一桁程度上昇することを見だし、ナノ粒子添加によりアガロースゲル電気泳動感度上昇を実現した。</li> </ul> <p><b>B-2. (自己評価 B)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ナタデココシートの吸水性、強度、薬剤放出について評価を行い、作製条件を設定した。</li> <li>ナタデココを担体とした細胞培養に成功し、再生医療の足場となる可能性を見出した。</li> <li>独自の培養、乾燥・プレス、加工によりナタデココポイントの作製法を確認した。</li> </ul> <p><b>B-3. (自己評価 A)</b></p> <p>基礎研究の第1報はCORRに掲載された(第2報は審査中で)。同内容はJSTの支援を受けて国際特許に出願した。医療協力が進展し、骨セメントの臨床応用(2患者)を実施した。 (臨床試験を開始するとともに、国際医療協力が進展した。)</p>
<p><b>C-1. 新規ハイドロゲルの開発</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>膨潤性が良好で、かつ体温付近で転移するヒドロゲルを開発する。</li> <li>酸化亜鉛を含む発光性ヒドロゲルを開発する。</li> </ul>	<p><b>C-1. (自己評価 B)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>新規ヒドロゲルを開発し、その膨潤性および薬物放出特性を明らかにした。</li> <li>親水性酸化亜鉛とヒドロゲルから成る新規発光性ヒドロゲルコンポジットの開発に成功した。</li> </ul>

<p><b>C-2. ハイドロジェルを用いた、悪性腫瘍や代謝性疾患に対する治療方法開発の為に基礎研究</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・特性温度が体温により近い新規刺激応答性ハイドロジェルを開発し、その性質を解析する。</li> <li>・白血病や固形癌の治療標的となりうる分子群を同定し、それらを阻害または活性化した際の細胞増殖効果を明らかにする。</li> <li>・分子標的薬や抗腫瘍薬をハイドロジェルに含有させ、試験管内で温度変化による放出を確認する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・酸化亜鉛を含んで発光性があり、生理食塩水中で分散する新規キトサン系ヒドロゲルを開発した。急性毒性試験で毒性はみられなかった。</li> </ul> <p><b>C-2. (自己評価) A)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ハイドロジェルに含有させた擬似薬物が 40℃で放出されることを確認した。</li> <li>・乳がん細胞は、細胞質内にアジュバント受容体を発現しており、リガンドである poly(I:C)を細胞質に導入すると細胞死と増殖抑制が生じることを見出した。</li> <li>・造血毒性の少ない白血病治療を開発するために、急性骨髄性白血病幹細胞と正常造血幹細胞で Survivin 下流に存在する機能的に異なる分子群を同定した。</li> <li>・低転移性および高転移性大腸がん細胞の比較により、低転移性細胞で発現の高い蛋白質を見出した。この蛋白質の高転移性細胞での強制発現により、腫瘍の増殖および肺転移能が顕著に抑制され、腫瘍血管新生も抑制されることを見出した。 (悪性腫瘍などの治療方法開発の為に知見が得られた。)</li> </ul>
<p><b>D-1. 新規チタン酸バリウムの医療応用技術の開発</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・強誘電体及び磁性体ナノ粒子の温熱治療への適用性を調べる。</li> <li>・強誘電体ナノ粒子を含むハイドロジェルを開発し、RF波でジェルの相転移を制御する。</li> <li>・磁性ナノ粒子を作製し、MRI への適用性を調べる。</li> </ul> <p><b>D-2. 近赤外蛍光標識技術の開発</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・拡がった π 共役系を有するフタロシアニン錯体の近赤外線域における吸収</li> </ul> <p>蛍光特性の実用化の可能性について、水溶性のフタロシアニンを新たに合成し、検討を行う。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・フタロシアニン錯体の組織移行や検出感度を検討する。</li> <li>・近赤外線測定による組織からのフタロシアニン錯体の検出感度を検討する。</li> </ul>	<p><b>D-1. (自己評価) B)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・RF 波照射による蒸留水の温度上昇が、KF 添加 BaTiO<sub>3</sub> や BiFeO<sub>3</sub> 微粒子を分散させることで、向上することを見出した。</li> <li>・34℃付近で体積相転移を起こすハイドロジェルの誘電率の温度依存性を詳細に調べ、転移点での誘電異常を見出した。10%KF 添加 BaTiO<sub>3</sub> ナノ粒子を添加したハイドロジェルでは、誘電率の値が約 20%大きくなる。誘電率の上昇は、RF 波の吸収に有利に働くので、RF 波でジェルの体積変化を制御できる可能性を示唆している。</li> <li>・ZnO 系粒子、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ナノ粒子が MRI 造影剤として使えることを臨床用装置で確認した。また、BiFeO<sub>3</sub>、BaTiO<sub>3</sub>-BiFeO<sub>3</sub> 混晶等の微粒子合成法を確立し、評価実験を開始した。</li> </ul> <p><b>D-2. (自己評価) B)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・カルボキシル基を 8 個および 16 個環周辺に導入することで、水溶液に可溶なフタロシアニンを合成し、アルカリ水溶液中 (pH 9.2) でこれらが近赤外領域 (~700 nm) に、強い光吸収および蛍光特性を有することを確認した。</li> <li>・ラット組織での水溶性フタロシアニン (1 または 5mg/kg 注入) の血中から組織への移行性を調べた。各組織におけるフタロシアニンの濃度を蛍光分光光度計で測定したところ、血清、肝臓、脾臓および肺への分布は確認できたが、脳への移行は確認されなかった。脂溶性の溶媒や物質への結合を行い、脳への移行の試みる必要がある。</li> </ul>
<p><b>E-1. ナノ物質の安全性評価</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・臨床応用と密接に連携した細胞および組織・器官・個体レベルにおける酸化亜鉛ナノ粒子の安全性評価を行う。</li> <li>・未確立分野である、ナノ粒子の生細胞影響評価方法へのレーザーラマンイメージング評価技術法の確立を狙う。</li> <li>・学内における臨床応用動物実験の一元化を図り、松江一出雲一実験動物分野の連携強化による動物実験を実施する。</li> </ul>	<p><b>E-1. (自己評価) A)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・松江一出雲一実験動物分野の連携強化による、学内での安全性評価システムを構築し、臨床応用動物実験の一元化として、動物実験プランの策定、動物実験の実施、結果考察に関するカンファレンスを定期的に行った。</li> <li>・酸化亜鉛関連物質 7 種類の急性および慢性毒性試験を経口投与と経静脈投与で行い、一部のナノ関連物質の安全性を確認した。一部の物質では問題点を抽出、課題を検討した。</li> <li>・ナノ粒子の生細胞影響評価法としてレーザーラマンイメージング技術法の確立をめざし、共焦点レンズとラマン散乱測定装置の組み合わせ実験を行った。</li> <li>・レーザーラマン顕微鏡による肝細胞内脂肪球、分裂酵母の細胞活性を測定した。 (ナノ医療の安全評価の学内連携の体制が整った。)</li> </ul>
<p><b>(2)プロジェクト全体の自己評価(プロジェクト全体としての達成目標から、今年度の研究成果がこれまでの経過・成果にもとづいてどの段階にあるのかを明示して下さい。また、各グループ間での連携状況についても記入してください。)</b></p>	
<p><b>●プロジェクト全体評価(自己評価) プロジェクト全体としての達成目標に対する今年度の研究成果の達成状況について(自己評価 A)</b></p> <p>本プロジェクトでは安全、安価で高機能な島根大学発の蛍光標識剤と薬物送達システムの開発及び診断・治療の基礎技術開発を行うため、4つのグループでそれぞれのナノ材料系の特性や機能等の臨床応用の可能性を示すことができた。本年度は最終年度として<b>診断・治療の基礎技術開発</b>を調べることを目標として研究に取り組んだ。結果として酸化亜鉛グループで蛍光標識剤の製品化への進展やナタデココグループにおける骨セメントの臨床試験の実施、ハイドロジェルやイメージングに関する学内連携の進展、ナノ材料開発で不可欠な安全性評価体制の構築など大きな成果を上げることができた。また、大学院医理工農連携プログラムやナノテク関係の学生の国際交流、海外医療協力に貢献するなど、本学の特色あるナノテク分野の教育研究拠点に向けた基礎をつくることができた。更に、日本ナノメディシン交流協会主催の 6th International Symposium on Nanomedicine(H24 開催打診)、医用分光学会の第 9 全国大会(H23 開催決定)という新しい分野の学会の初めての地方開催地に選ばれるなど大学としての取り組みが学外でも評価された。</p> <p><b>●各グループ間の連携状況</b></p> <p>本プロジェクトはナノ材料御を用いた標識剤と薬物送達システムを中心とした診断・治療の基礎技術開発であり、4つの材料関係のグループは医療系の出口は異なるが、共通技術を基盤としている。今年度は、臨床分野も含めて活発な連携が進んでいる。その成果は公表論文、学会発表、特許などの成果に現れている。以下に本年度の主な連携を示す。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・安全評価(全グループ)</li> </ul>	

- ・抗体修飾技術に関する連携 (A1, A2, B1, C1)
- ・ハイドロゲルへの蛍光性付与、光・RF 照射による薬物放出の制御 (A1, C1, D1 北テキサス大学)
- ・酸化亜鉛の波長変換技術への有機物質の導入 (A3, D2, A1)
- ・DNA 診断システムへの酸化亜鉛ナノ粒子導入による高感度化 (B1, A1, E1)
- ・磁性ナノ粒子のイメージングへの応用 (D1, A1, A2, E1)
- ・安全評価技術のイメージングへの応用 (A2, E1, A1)

さらに都市エリア事業や医理工農連携プログラム等との連携も進展している。特筆すべきは医療技術(法医学)による食品の産地同定や診断技術による食肉の脂肪分布検査など通常の医工連携とは逆の連携(医から工、産へ)も進展したことである。今後、さらに継続的な連携が進み、大学の特色ある教育研究分野としての総合力を発揮できるようになると予想される。

⑥ 公表論文、学会発表など(当該研究に関連した本年度の公表論文、学会発表、特許申請の件数を一覧表に記入して下さい。発明等に関しては、差し支えない範囲で記載して下さい。)

論文掲載 (総件数)	92(重複あり)
学会発表 (総件数)	181(重複あり)
特許出願 (総件数)	2

【内訳】

●論文

1. K. Senthilkumar, H. Okamoto, M. Tokunaga, **O. Senthilkumar, Y. Fujita**, "Hydrogen related defect complexes in ZnO nanoparticles", App. Phys. Lett. 97, 091907 (2010).
2. **Moriyuki Sato**, Hajime Harada, Shigekazu Morito, **Yasuhisa Fujita**, Shunsuke Shimosaki, **Takeshi Urano, Morihiko Nakamura**, "Preparation, characterization and properties of novel covalently surface-functionalized zinc oxide nanoparticles", Applied Surface Science, Applied Surface Science, 256(14): 4497-4501 (May 2010).
3. **Ichiro Hiromitsu**, Ayana Kawami, **Senku Tanaka**, Shigekazu Morito, Ryo Sasai, Takahisa Ikeue, **Yasuhisa Fujita** and **Makoto Handa**, "Luminescence of tetraphenylporphyrin by an energy transfer from photoexcited ZnO nanoparticle", Chemical Physics Letters, 501 (2011) 385-389.
4. **T. Nakai**, K. Abe, **G. Sekine**, and A. Yoshino, "Manufacture of a dental point with natural cellulose fibers", Transaction of MRS-J, 35(4), 947-950 (2010).
5. Increased antibiotic release from a bone cement containing bacterial cellulose. **Mori R, Nakai T**, Enomoto K, Uchio Y, Yoshino K. Clin Orthop Relat Res. 2011 Feb;469(2):600-6.
6. **Fukuda S**, Abe M, Onishi C, Taketani T, Purevsuren J, Yamaguchi S, Conway EM, Pelus LM. Survivin Selectively Modulates Genes Deregulated in Human Leukemia Stem Cells, *Journal of Oncology* (in press)
7. **M Tongu**, N Harashima, T Yamada, T Harada, **Harada M**. Immunogenic chemotherapy with cyclophosphamide and doxorubicin against established murine carcinoma. Cancer Immunology Immunotherapy, 59: 769-777, 2010.
8. **Zhonghua Dai** and **Yukikuni Akishige**, Electrical Properties of Multiferroic BiFeO3 Ceramics Synthesized by Spark Plasma Sintering, J. Phys. D: Appl. Phys. 43 (2010) 445403 (1-5).
9. Takahisa Ikeue, Makoto Sonoda, Satoshi Kurahashi, Haruaki Tachibana, Daichi Teraoka, Tamotsu Sugimori, Kuninobu Kasuga, and **Makoto Handa**, "Annulated dinuclear palladium(II) phthalocyanine complex as an effective photo-oxidation catalyst for near-infrared region light", Inorganic Chemistry Communication, 13, (2010).1170-1172.
10. Sheikh AM, **Nagai A**: Lysophosphatidylcholine modulates amyloid beta peptide fibrillation process. FEBS J 278, (2011). 634-642.

●学会発表(代表的なものを数件記入して下さい)

1. **Senthilkumar Obuliraj**, Senthilkumar Kasilingam, Shigekazu Morito, Takuya Ohba, **Moriyuki Sato, Hideo Akiyoshi** and **Yasuhisa Fujita**, "ZnO nanoparticles encapsulated by the chemically derived chitosan micro gels", 4th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2010), Okazaki, Nov 29, 2010.
2. A. Yoshino, **T. Nakai**, M. Uo, S Kondo, M. Tabuchi, **J. Sekine**: Applicability of bacterial cellulose to dental root canal treatment. 4th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2010), Okazaki, Nov 29, 2010.
3. **I. Hiromitsu**, A. Kawami, **S. Tanaka**, S. Morito, R. Sasai, T. Ikeue, **Y. Fujita, M. Handa**: "Excitation energy transfer in ZnO-tetraphenylporphyrin conjugate", International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, 2011, March 16-18, Sendai.
4. 藤原純子, **竹下治男, 藤田恭久**, 「酸化亜鉛ナノ粒子によるエチジウムブロマイド発光強度上昇の検討」, 第8回ナノ学会 抄録集 2010, p.23 岡崎
5. **森隆治**, 「医療用生体材料開発の壁」、広島工業大学公開シンポジウム(招待講演), 2010年11月20日, 広島
6. **Fukuda S**. Blood Stem Cells and Leukemia: How do they move in our body?, *Ningxia-Japan Annual Genetic Metabolic Disease Forum*, Ningxia, China, 2010/9/21 (招待講演)

●特許出願

1. **秋吉英雄, 藤田恭久**, 「細胞内脂肪球イメージング方法, イメージング用蛍光剤およびイメージング用蛍光剤製造方法」, 特願 2010-126562, H22年6月2日.
2. **森隆治, 中井毅尚**, 吉野勝美, 「骨セメント」(内容) ナタデココを使った骨セメント, (出願者) 島根大学, (出願) 前年度に国内出願していたものを国際特許出願 (PCT)
3. 岡崎宏亮, 成相裕子, 加藤太陽, **浦野健**, 「安価、簡便、短時間でタンパク質相互作用をリアルタイムに可視化する技術」, 出願準備中

⑦外部資金獲得状況（当該プロジェクトに関連した外部資金について一覧の各項目に総件数、金額を記入して下さい。）

■外部資金獲得状況一覧		件数	金額(千円)
(1) 科研費 (配分額は間接経費を含む)		19	配分額 37,600
(2) 科研費以外の外部資金	受託研究	8	91,200
	共同研究	7	2,080
	寄附金・助成金	3	1,400
	合計	37	132,280

【一覧内訳】

(1) 科研費(科目ごとに、テーマ、研究者、金額をそれぞれ列挙してください。)

- 竹下治男(代表研究者)、藤原純子、安田年博、高塚 尚和、基盤研究 A「疾患感受性遺伝子 DNase I の多型機構解明」、4,290 千円
  - 福田誠司(代表研究者)、基盤研究 B、「Survivin を標的とした活性型 Flt3 陽性造血腫瘍に対する新たな治療戦略開発」 3,510 千円
  - 磯部威(代表研究者) 基盤研究 「非小細胞肺癌のファーストライン治療の個別化」、2,600 千円
  - 浦野健、(代表研究者)、基盤研究 B「ヒストンコードにおける アルギニン残基のメチル化修飾制御機構の解明」、4,550 千円
  - 竹永啓三(代表) 基盤研究 (C) 「悪性脳腫瘍の抗癌剤抵抗性に及ぼす腫瘍内微小環境の関与の解析とその治療への応用」、1,170 千円
  - 原田守、基盤研究(C)「癌細胞とキラーT細胞が発現する Toll 様受容体のがん免疫療法への応用」1,430 千円
  - 竹下治男(代表研究者) 科学研究費挑戦的萌芽研究 「急性心筋梗塞用マイクロ流路デバイス型 DNase I 活性測定法開発」、1,200 千円
- 他 12 件

(2) その他外部資金(一覧の項目別に、テーマ、研究者、金額を列挙してください。)

- 受託研究「環境にやさしい材料を用いた次世代照明デバイス・新エネルギー関連技術による新産業の創出」(藤田 恭久、中村 守彦、竹下治男、秋吉 英雄、宇田川 潤、藤原 純子 他) 81,400 千円
  - 中村守彦:「タンパク質修飾による機能的造影剤の開発と超微細がんの可視化」JST A-STEP フィージビリティースタディー【FS】ステージ「探索タイプ」 1,300 千円
  - 受託研究「南アジアにおける医療協力」(徳州会研究助成)(森隆治) 700 千円
  - 第 29 回 先進医薬研究振興財団 血液医学分野一般研究助成「Survivin と Evi-1 による造血幹細胞の再生増殖制御機構の解析」(代表 福田誠司) 1,000 千円
  - 平成 22 年度 財団法人母子健康協会小児医学研究助成「小児急性白血病の中枢神経浸潤の制御機構と新規治療標的分子の探索」(代表 福田誠司) 1,500 千円
  - 第 42 回 内藤記念科学振興財団奨励金 「白血病幹細胞の髄外浸潤の制御機構と新規標的分子の探索」(代表 福田誠司) 3,000 千円
- その他 12 件

⑧その他特筆すべき成果(受賞、シンポジウムの開催、産学連携・地域連携に関する各種見本市、展示会への出展等も含む)

- プロジェクトのアクティビティが学外でも認められ、日本ナノメディシン交流協会主催の International Symposium on Nanomedicine の島根開催について打診を受けた。また、医用分光学会全国大会(H23.11月)の島根大開催が決定した。
- 4th International Symposium on Nanomedicine[Best Poster Award]などプロジェクト関係の若手研究者が国際会議 3 件の学会賞を受賞するなど 5 件の受賞があった。
- 科学・技術フェスタ in 京都、出雲産業フェア、アグリビジネス創出フェア、ナノバイオ Expo 2011、nano tech2011 など国際展示会を含め幅広く成果発表を行い、産学連携などへ向けた成果を上げた。
- ネパール (Chaujahari Hospital) における医療協力と地域調査を行った。現地にて 4 カ月滞在し、一般的手術 150 例、本プロジェクトの臨床試験 2 例を実施し、活動は現地ラジオで紹介された。
- 安価、簡便、短時間でタンパク質相互作用をリアルタイムに可視化できる「on beads 顕微鏡アッセイ」を開発した。
- 強誘電体の研究が科研費の新学術領域(領域提案型)のヒアリング審査に残った。
- 島根大学医生物学ラマン研究会(会員数約 30 名)第 2 回講演会(6月9日)を開催し、学内貢献を進めた。
- 2010 年: 日本学術振興会 科学研究費委員会専門委員 小児科学担当に任命(福田誠司)。
- 日本学術振興会の特別研究員(欧米短期)が採択になり University of North Texas から研究員(博士課程学生)2 名(4 カ月間(2010 年 1 月 29 日より)、6 カ月間(2010 年 3 月 25 日より))を受け入れ、ナノメディシン(酸化亜鉛、チタン酸バリウムとハイドロジェルの融合)に関する共同研究を実施した。
- 米国 National Science Foundation の IRES プログラムにより University of North Texas から学生 2 名を受け入れ、酸化亜鉛の研究による学生の研究交流を行った。
- 酸化亜鉛ナノ粒子を用いて食品の品質管理やバイオ医療研究用に使用できる脂質分布の蛍光イメージングを実現した(特許出願済み)。これを用いた肝細胞内の脂肪球の蛍光イメージングのビデオが文部科学省情報ひろば(霞が関)に展示されることになった。
- 体験実習、見学ツアーなど高大連携に積極的に貢献した。

⑨ 本年度の主要な研究成果 (図, 表, ポンチ絵などを多用して, 2ページ以内にわかりやすくまとめてください)

A. 酸化亜鉛

A-1. 酸化亜鉛蛍光標識剤の開発

生体内での分散性が良く官能基付加やシリカコートした酸化亜鉛ナノ粒子等を開発し, がん検診などに応用できることを示した(図-1, 2).

官能基の異なる酸化亜鉛ナノ粒子標識した抗Mac-1抗体によるマウスがん細胞 (Raw264.7) の蛍光観察 (in vitro 実験)

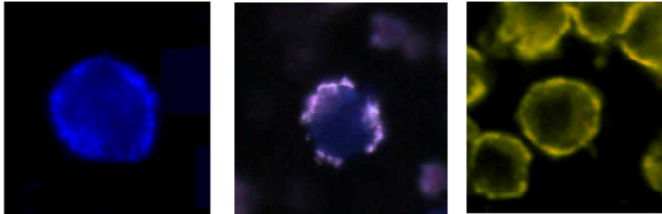


図-1 可視光領域で蛍光を発する種々の酸化亜鉛ナノ粒子

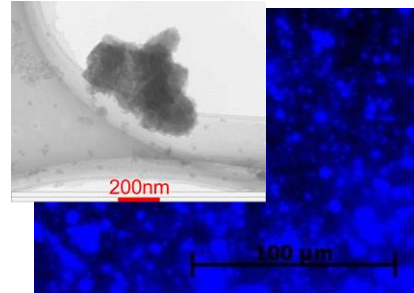


図-2 チオール基付加シリカコート酸化亜鉛ナノ粒子とその蛍光

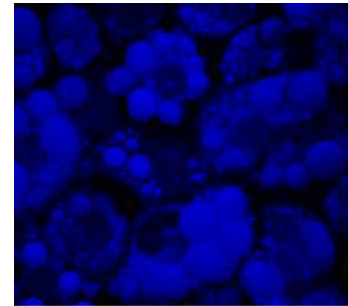


図-3 培養脂肪細胞 (3T3 L1) の脂肪球イメージング

A-2. 酸化亜鉛ナノ粒子を用いた可視化技術・診断技術の基礎開発

A1 グループで開発した酸化亜鉛ナノ粒子, 蛍光標識剤を用いてがんの蛍光観察ができること(図-1)と CT, MRI の造影剤の可能性を示した. また, 酸化亜鉛ナノ粒子-イソプロピルアルコール系蛍光標識剤を用いて脂肪細胞の可視化技術が進展し(図-3), 標識キットの製品化や食肉の評価などへ向けた共同研究へ発展した.

B. ナタデココ

B-1. ナタデココの臨床医療応用

酸化亜鉛や酸化チタン添加によりエチジウムブロマイド (EtBr) の発光強度上昇を見だし, アガロースゲル電気泳動による感度上昇を実現した(図-4). 本方法により疾患の迅速・高感度な診断法の確立など幅広い応用が期待される.

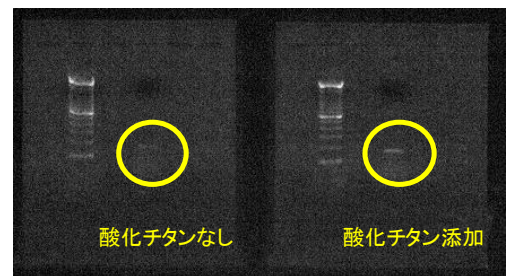


図-4 酸化チタン添加のアガロースゲル電気泳動による感度上昇

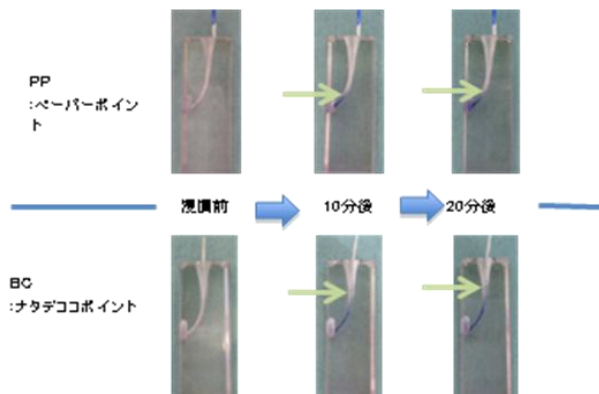


図-5 根管モデル挿入時の吸収性比較

ナタデココポイントと既製ペーパーポイントを根管モデルに挿入し吸収性を比較したところ, ナタデココは高い吸収性を示した.

B-2.

ナタデココペーパーポイントを用いた創傷の治療や機能回復

材料工学的評価を行い, 既製歯科治療材ペーパーポイントと比較して膨張性, 引張強度, 薬剤徐放性, 吸着性, 吸収性で優れた特性を確認した((図-4).

B-3. ナタデココ臨床医療応用のアジア各国における需要調査

ネパール (Chaujahari Hospital) における医療協力と地域調査 (一般的手術 150 例), ナタデココを含んだ骨セメント(図-6)の臨床試験 2 例を実施した. 活動は現地ラジオで紹介された.

**ナタデココを含んだ骨セメント**  
特許 2010-006468, Clinical Orthopedics 2010

骨の感染の治療 (世界100万例/年)

骨セメントの役目  
①薬の放出期間が長い  
②壊れない

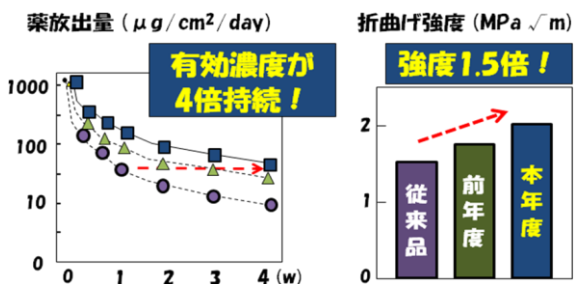


図-6 ナタデココを含んだ骨セメント

### C. ハイドロジェル

#### C-2. ハイドロジェルを用いた、悪性腫瘍や代謝性疾患に対する治療方法開発の為に基礎研究

ハイドロゲルの薬物放出特性を擬似薬物としてフルオレセインを用い測定した結果、40°Cで薬物放出を確認できた(図-6)。

また、白血病や固形癌の治療標的となりうる分子群の同定に成功し、それを標的とする分子標的薬の開発指針を得ることができた(図-7)。

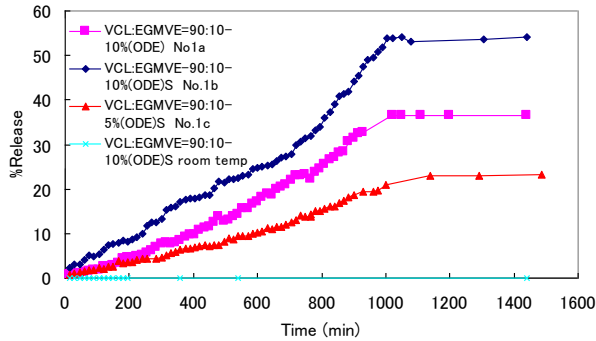


図-6 ハイドロゲルの薬物放出特性

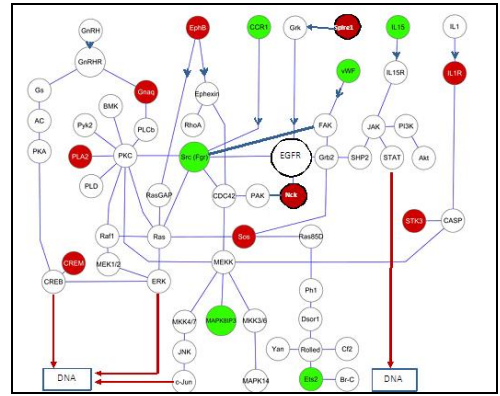


図-7 白血病幹細胞で Survivin 下流に存在する分子群の同定

### D. 新規ナノ材料

#### D-1. 新規チタン酸バリウムの医療応用技術の開発

ハイドロゲルの誘電率の温度依存性を調べ、10%KF 添加 BaTiO<sub>3</sub> ナノ粒子を添加したハイドロジェルでは、誘電率の値が20%以上大きくなることを見いだした(図-8)。誘電率の上昇は、RF 波の吸収に有利に働くので、本結果は RF 波でジェルの体積変化による薬物放出の制御に繋がる。

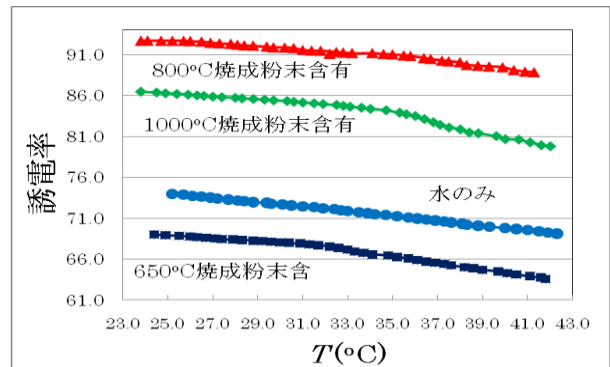


図-8 新規チタン酸バリウム を添加によるハイドロゲルの誘電率の増大

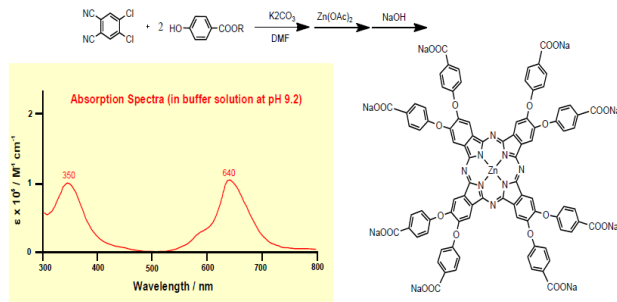


図-9 水溶性フタロシアニン

#### D-2. 近赤外蛍光標識技術の開発

700nm 前後に強い光吸収および蛍光特性を有する水溶性フタロシアニンを開発し(図-9)、ラットによる組織移行を確認した。

### E. 安全性評価

#### E-1. ナノ物質の安全性評価

マウスを持ち手酸化亜鉛関連物質 7 種類の単回経口投与毒性試験を行い、安全性を確認した。また、尾静脈内投与試験や肝臓の病理組織学的検討を開始した。

また、ラマンイメージングにより酸化亜鉛で標識した脂肪滴の確認に成功した。これによって生命のラマンシグナル等を用いて新しい細胞学的安全評価法となりうることを示した。

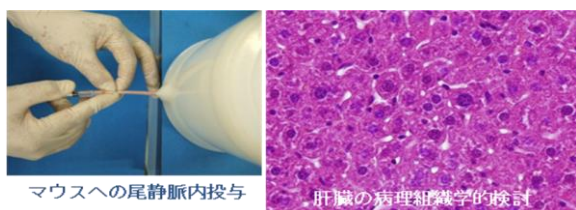
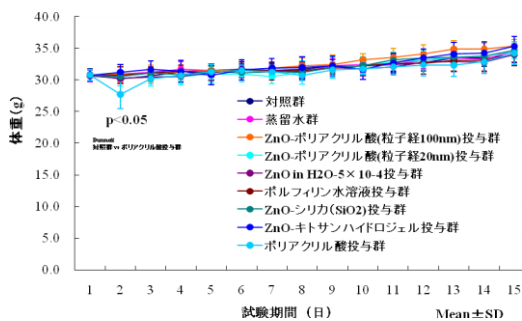


図-10 酸化亜鉛関連物質の単回経口投与毒性試験結果(上)とマウスへの尾静脈内投与試験(下)

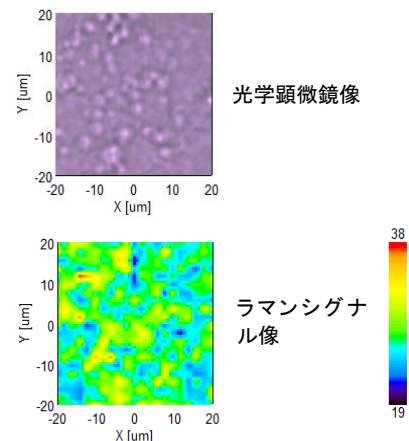


図-11 顕微ラマン分光法による脂肪滴のラマンイメージング(協力:日本分光(株))

## ⑩研究成果の教育への還元、若手研究者育成プランについて

(計画書の内容を踏まえて、今年度取り組んだ内容を記入して下さい。)

本プロジェクトの使命は、松江キャンパスと出雲キャンパスの連携を深めて特徴的なナノメディシンの研究を推進し、グローバル COE 申請やナノテク教育研究センターなど拠点形成を行うことである。そのため、教育面ではプロジェクト当初から大学院の医理工農連携プログラムプログラムの授業や研究の場を提供するなど中核的な役割を果たしてきた。

### (医理工農連携プログラム)

本プロジェクトでは、地域の産学官連携事業と協力してナノテクの共同実験室を整備し、両キャンパスの医理工農連携プログラムの学生やプロジェクトに参画する若手研究者が得意分野を教えあい、一緒に最先端の研究ができる環境を整えた。更に、ナノテク分野については全学国際交流の重点分野に指定され、このプロジェクトで共同研究を行っている北テキサス大学(University of North Texas)から学生4名を受け入れて国際交流を実施した。

### (研究発表の奨励)

プロジェクトに参画する若手研究者や学生に対し、プロジェクト経費を使い、学会、展示会における発表を奨励してきた。本年度は、その中で以下のような国際会議における受賞など若手研究者の育成の効果が表れた。

4th International Symposium on Nanomedicine Best Poster Award

アメリカ血液学会 TRAVEL AWARD

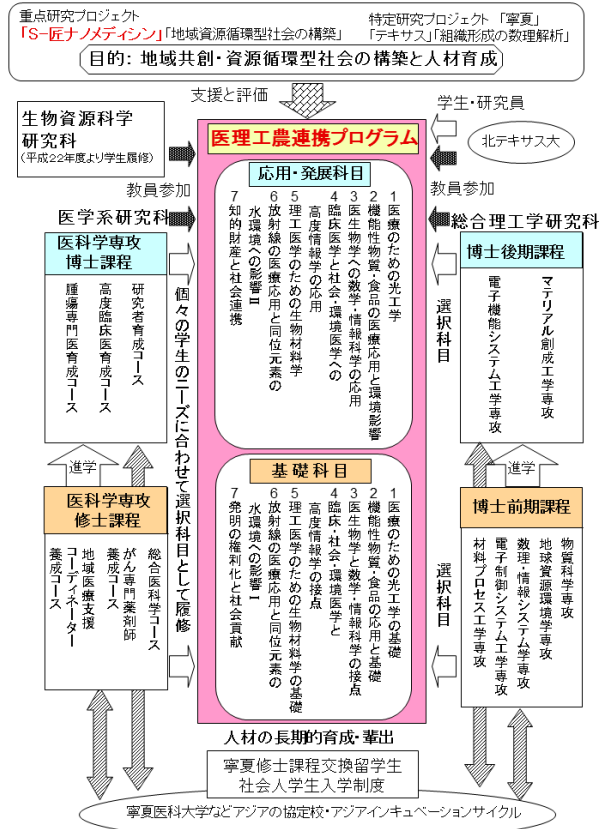
誘電体分野の国際会議(RCBJSF-10)Young Scientist Award

### (アジア地域との連携)

インド、ネパール寧夏医科大学などの医療協力や臨床試験を通して若手研究者の育成も実施した。さらに産学連携センターの協力のもと、アジアインキュベーション協会を通して人材育成活動の紹介も継続的に実施した。



医理工農連携プログラムの学生と北テキサス大学生が共同研究を実施 (H22年6月 プロジェクト共同実験室にて)



### (島根大学医生物ラマン研究会)

医療生物分野で強力なツールとなるラマン分光の学内普及を進めるために昨年度発足した研究会(会員約30名)を発足した。本年度は第2回講演会(参加者約60名)を実施し、プロジェクトの枠を超えて若手研究者や学生への勉強会の場を提供した。

### (今後の展開)

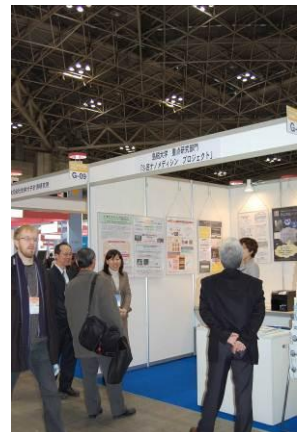
これらの取り組みは、本プロジェクトの3年間で終了するものではなく、大学院の連携プログラムやナノメディシン関係の研究設備など継続性のある形をつくることができた。この連携の輪は更に広がりつつあり、ナノテク関係の研究プロジェクトは次期重点研究部門(H23~25年度)に選定された。その後のナノテク教育研究センターの設立など、島根大学の特徴ある教育研究分野と拠点の形成を目指していく。

## ⑪本研究プロジェクトの成果の公表計画について(学術雑誌への投稿, 国際学会での発表, 特許申請など)

本プロジェクトの研究成果はH23年3月10日の終了報告会(くにびきメッセ国際会議場)で発表する。また、本プロジェクトは次期重点研究部門「S-グリーン・ライフナノ材料プロジェクト」(H23~25年度)に引き継がれる予定であり、今後も積極的な論文投稿、学会発表、地域展示会、国際展示会出展、教科書執筆等を行っていく。特に、島根開催が予定される医用分光学会全国大会(H23年11月)、6th International Symposium on Nanomedicine(H24年)においては、これまでの集大成として精力的な発表を行うことを計画している。また、現在進めている臨床試験については3年後を目途に結果をまとめて学術誌に発表する予定である。更に海外の病院において講習会を開くことで技術の普及を図っていく。



ナタデココを用いた科学教室を通して地域との交流を促進(出雲ドーム)



ナノバイオ Expo 国際展示会(東京ビックサイト)