

島根大学研究機構 戦略的研究推進センター 『重点研究部門』		平成27年度	年度報告書	提出日 平成28年2月10日
① プロジェクト名	島根大学のシーズを活かした学際的新規医療技術開発拠点の確立 (Establishment of a cross-disciplinary hub center to develop unique medical technologies)			
② プロジェクトリーダー	山本達之	所属	生物資源科学部	
		電子メール	tyamamot@life.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は、臨床診断へのラマン分光法の基礎研究と応用研究を柱とした、3つのサブグループから構成される。柱となるラマン分光法の医療応用に関する研究の他、従来よりも直進性が高く深部の臓器の超音波診断への応用技術の開発、酸化亜鉛ナノ粒子やフタロシアニンなどのナノマテリアル、ソフトマテリアルの医療応用に関する研究も行う。本プロジェクトは、「S-ナノテク」、「S-匠ナノメディシン」、「S-グリーンライフナノ材料」と3期続いた重点プロジェクトの医療関係の成果を引き継ぎ、発展させることを目的としている。ラマン分光法は、試料の前処理が不要で、非侵襲的な測定が可能な分光法であり、工学分野では一般的に用いられてきた。しかし、医学生物分野では評価手法の一つとして用いられるものの本格的な研究は少なく、がん組織の簡便な診断など目指して国内外で応用研究が取り組まれているが、当初の予想ほど研究は進んでいない。このような状況の中、本学では、ラマン分光法による生細胞の代謝評価などの基礎的研究と、好酸球性食道炎の簡便な診断などの応用研究の両方が、S-グリーンライフナノ材料プロジェクトを中心に確実に進められてきた。これらの研究では、ラマンスペクトルに現れる、特徴的な「マーカークラウド」に注目して、組織や細胞の状態を評価するという手法を採っているために、他の研究者らと比較しても、明瞭な結果が出ている。近い将来には、この手法により、好酸球性食道炎の新規診断法が確立できるものと期待している。ナノテクプロジェクトセンターにこれまでに集積されてきた、ナノテク関連機器とも組み合わせることで、医・生物ラマンプロジェクトセンターとも連動しつつ、特徴的な診断・治療技術と共に本学の学際的な教育研究の核の一つとして発展させることを最終目標とする。本プロジェクトでは、これらの取組により医療の発展に貢献するとともに地域産業を支える差別化技術として本学のCOC、COC+事業にも貢献していくことを目指す。</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)		(A.ラマン分光学の医生物応用)		
Yamamoto Tatsuyuki 山本 達之	生物資源科学部・生命工 学科(教授)	A1, 2Gr リーダー兼任 プロジェクト・ラマン分光学グループ総括、ラマン分光学の医生物応用、ポータブルラマン装置を用いた応用研究		
		(A1.基礎研究部門)		
Nagai Atsushi 長井 篤	医学部・医学科・臨床検査 医学講座(教授)	A2Gr サブリーダー ミトコンドリア機能のラマン分光法による評価		
Ohira Akihiro 大平 明弘	医学部・医学科・眼科学講 座(教授)	網膜疾患と酸化ストレスのラマン分光法による病態解明		
Kawamukai Makoto 川向 誠	生物資源科学部・生命工 学科(教授)	分裂酵母に対する薬剤添加の影響の評価		
Kaino Tomohiro 戒能 智宏	生物資源科学部・生命工 学科(准教授)	分裂酵母に対する薬剤添加の影響の評価		
Hemanth Noothalapati ヘマンス ニュータラパティ	医・生物ラマンプロジェクト センター(助教)	顕微ラマン分光法による細胞内の分子動態測定		
Kodama Yuuki 児玉 有紀	生物資源科学部・生物科 学(准教授)	繊毛虫ミドリゾウリムシと緑藻クロレラとの細胞内共生成立機構の解明		
		(A2.応用研究部門)		
Kinoshita Yoshikazu 木下 芳一	医学部・医学科・第2内科 学講座(教授)	A2Gr サブリーダー 好酸球性食道炎のラマン分光法による新規診断技術の開発		
Oshima Naoki 大嶋 直樹	医学部・医学科・第2内科 学講座(助教)	好酸球性食道炎のラマン分光法による新規診断技術の開発		
Maruyama Riruke 丸山 理留敬	医学部・医学科・病理学講 座(教授)	ラマン分光法の各種病理診断への応用		
Takeshita Haruo 竹下 治男	医学部・医学科・法医学講 座(教授)	法医学へのラマン分光法の応用		
Fujihara Junko 藤原 純子	医学部・医学科・法医学講 座(助教)	法医学へのラマン分光法の応用		
		(B. 新規超音波診断技術等の基礎的研究)		
Tsukata Shinya 塚田 真也	教育学部・自然環境教育 講座(講師)	B グループリーダー チタン酸バリウムナノ粒子を用いた新規超音波診断技術の開発		
Shikanai Fumihito 鹿内文仁	教育学部・自然環境教育 講座(特任准教授)	チタン酸バリウムナノ粒子を用いた新規超音波診断技術の開発		

Masuda Hiroji 増田 浩次	総合理工学研究科・機械・電気電子工学領域(教授)	近赤外分光技術とプローブの開発
Kitamura Kokoro 北村 心	総合理工学研究科・機械・電気電子工学領域(助教)	近赤外ラマン分光技術の開発
		(C. ナノマテリアルの応用とメカニズム解明)
Handa Makoto 半田 真	総合理工学研究科・物質化学領域(教授)	Cグループリーダー フタロシアニンなど拡がった $\pi$ 共役系をもつ新規錯体・化合物を合成と医療への応用
Fujita Yasuhisa 藤田 恭久	総合理工学研究科・機械・電気電子工学領域(教授)	医療・食品応用および光デバイスに資する酸化亜鉛ナノ粒子・薄膜の合成と応用
Ikeue Takahisa 池上 崇久	総合理工学研究科・物質化学領域(准教授)	がん治療に有効なフタロシアニンやポルフィリン金属錯体の合成と応用
Isobe Takeshi 磯部 威	医学部・医学科・呼吸器・臨床腫瘍学講座(教授)	ナノマテリアルを用いた薬剤耐性がんの克服技術と酸化亜鉛ナノ粒子を用いたがん免疫機能向上法の開発
Sekine Joji 関根 浄治	医学部・医学科・歯科口腔外科学講座(教授)	ナタデココの歯科治療への応用
Fukuda Seiji 福田 誠司	医学部・医学科・小児科(准教授)	がん分子標的薬剤の開発
Nishimura Kohji 西村 浩二	総合科学研究支援センター・遺伝子機能解析部門(助教)	病原菌細胞の細胞内での動態観察・診断を目指した蛍光バイオイメージング
Kataoka Yusuke 片岡 祐介	総合理工学研究科・物質化学領域(助教)	光応答性薬剤として資する強発光性重金属錯体の開発

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
<b>A.ラマン分光学の医生物応用 (基礎部門)</b>	
<b>A-1:酸化ストレスの影響等が細胞代謝に及ぼす影響のラマン分光法による評価(山本, 長井, 大平, ヘマンス)</b> 【達成目標】 ・AMS マウス細胞のミトコンドリアのチトクローム <i>b, c</i> の酸化状態・還元状態の分子分布の可視化 ・酸化ストレスが網膜に与える影響のラマン分光法による評価と点眼薬デキタメサゾン(ステロイド剤)に変わる新規な薬剤の可能性の探索	(自己評価 B) ・AFM マウス(ホモ, ヘテロ)および野生マウスの神経細胞のラマンスペクトルを測定し、階層的クラスター解析を行った結果、シトクローム <i>b, c</i> のヘム由来のラマンスペクトル成分を分離し、ラマンマッピングによって可視化することができた(B) ・ヒト網膜を測定するための基礎データを集める目的で、ラットの凍結眼のラマンスペクトル測定を行った。網膜のラマンスペクトル測定を行うことが出来た。 <u>現段階では、新規薬剤が網膜に与える影響評価はできていないが、年度末に薬剤添加の有無によるラマンスペクトルに与える影響の差を調べる予定である(C)</u>
<b>A-2:細胞内の代謝物質の時空間分解ラマン分光測定(山本, 川向, 戒能, ヘマンス)</b> 【達成目標】 ・飢餓状態の分裂酵母の胞子形成に伴う分子内動態の可視化 ・ラマンスペクトル解析ソフト「HAMAND」を用いた解析技術の確立	(自己評価 A) ・時空間分解 2 次元ラマンスペクトルの多変量解析の結果、飢餓状態の分裂酵母が形成する胞子壁を構成する糖鎖と、栄養増殖中の細胞膜を構成する糖鎖では、糖鎖の種類と割合が異なることを、 <u>あるがままの生細胞を用いて世界で初めて視覚することに成功した(A)</u> ・解析ソフト「HAMAND」を用いて、ラマンスペクトルに含まれる微量成分の割合を正確に解析できることを明らかにした(B)
<b>A-3:ドリゾウリムシークロレラ共生過程のラマン分光法による解析(山本, 児玉, ヘマンス)</b> 【達成目標】 ・ミドリゾウリムシに取り込まれた共生藻(クロレラ)を覆う食胞膜が、PV 膜に変化する過程をラマン分光法と TOF-SIMS 法(2 次イオン質量分析法)を併用して解析する	(自己評価 B) ・共生藻(クロレラ)を覆う食胞膜のラマンマッピング測定が出来た。銀ナノ粒子を取り込ませたミドリゾウリムシの表面増強ラマンスペクトル(SERS)測定を試みたが、測定することは出来なかった。成蹊大学の青柳准教授の協力を得て、食胞膜とPV膜のTOF-SIMSスペクトル測定を依頼して、27年度中に解析終了の予定である(B)

<p>(応用部門)</p> <p><b>A-4:好酸球食道炎のラマン分光法による新規診断技術の開発(山本, 木下, 大嶋, ヘマンス)</b>  【達成目標】  ・ヒトの好酸球の浸潤の有無のラマン分光法による確認  ・ヒトの食道で使用できる内視鏡装備可能なラマンプローブ開発の開始</p>	<p>(自己評価 A)  ・ヒトの血液から分画した白血球を注射したマウス食道を用いて、好酸球のラマンスペクトルを測定することに成功した(B)  ・上記モデルマウスを用いたラマン測定に必要な、光ファイバラマン装置を開発した。更に、ヒトの食道で使用できる内視鏡装備可能なラマンプローブ開発を 28 年度から開始できるよう、<u>協力企業と、具体的な打ち合わせを開始した(A)</u></p>
<p><b>A-5:ラマン分光法による病理診断技術の開発(山本, 丸山, 藤田, ヘマンス)</b>  【達成目標】  ・ラマン分光法と細胞アレイ技術を併用した、尿・体腔液中の細胞診技術開発の開始</p>	<p>(自己評価 A)  ・培養癌細胞のラマンスペクトル測定を行って、細胞表面を中心としたラマンマッピング測定を開始した。<u>細胞診技術開発に必須な、細胞アレイ技術を有する、東京農工大学と研究協力協定を締結した(A)</u></p>
<p><b>A-6:ポータブルラマン分光装置を用いた法医学および食品科学への応用(山本, 竹下, 藤原, 藤田)</b>  【達成目標】  ・血液中のヘモグロビンのラマンスペクトルの共鳴ラマンスペクトル測定  ・魚介類や不飽和脂肪酸などの食品の品質のポータブルラマン装置を用いた迅速診断技術の確立</p>	<p>(自己評価 A)  ・ヒトとマウスの血液痕のラマンスペクトルを測定して比較した。主成分解析を行った結果、ヒトとマウスのラマンスペクトルを区別できることが分かった。<u>アクリルアミド電気泳動の結果と合わせると、血痕から動物の種類の違いが出来る可能性も示された(A)</u>  ・島根県特産のエゴマ油分子の炭素二重結合(C=C)に由来するラマンバンド強度を、「HAMAND」により解析した結果、エゴマ油の酸化状態の変化をラマンスペクトルによって評価できることが示された(B)</p>
<p><b>B. 新規超音波診断技術・近赤外分光技術等の基礎的研究</b></p>	
<p><b>B-1:チタン酸バリウムナノ粒子を用いた新規超音波診断技術の開発(塚田, 鹿内)</b>  【達成目標】  ・超音波の波長を選択する基礎技術として、様々な強誘電体を用いて、電磁波(交流電場)→熱の変換効率を定量的に評価する。</p>	<p>(自己評価 A)  ・島根大発の強誘電体を使った装置を作成して、「交流電場→熱」変換効率を評価した。交流電場によって、温度を 10 度まで上昇させることができた。<u>逆に、10 度下げる興味深い現象も見出した(A)</u>。  ・よりよい「交流電場→熱」変換を求めて、新たな強誘電体の探索を行った。(Sr<sub>1-x</sub>Ba<sub>x</sub>)<sub>2</sub>Nb<sub>2</sub>O<sub>7</sub>セラミックス、Ba-Ti-O 系のコンポジットセラミックスの開発を行った。<u>特に後者は、企業と特許を出願した(A)</u>。  ・強誘電体を評価する装置の開発を行った。相図作成のために「1000 度以上で誘電率が測れるシステム」や「偏光を制御したラマン分光システム」を立ち上げた。<u>特に、「偏光を制御したラマン分光システム」はインパクトが大きく、豊田理化学研究所の特定課題研究やリトアニアとの学振二国間交流事業に採択された(A)</u></p>
<p><b>B-2:新規ラマン分光技術の開発(増田, 北村)</b>  【達成目標】  ・近赤外分光・ラマン分光技術の高性能化の検討</p>	<p>(自己評価 B)  ・近赤外域の広帯域・高出力な光ファイバ増幅パルス光源の新規開拓と、各種液体媒質からの散乱光受光基本特性の実験確認を行い、近赤外・ラマン分光技術高度化の見通しを得た。(B)</p>
<p><b>C. ナノマテリアルの応用とメカニズム解明</b></p>	
<p><b>C-1:フタロシアニンなど拮がったπ共役系を持つ可溶性錯体を用いた光線力学治療(PDT)など医療技術への応用・開発(半田, 池上, 片岡)</b>  【達成目標】  ・新規フタロシアニンおよびフタロシアニン類縁錯体を合成し、光吸収・発光特性を調べる。  ・新規光応答性薬剤の開発のため強発光性重金属錯体を合成し、光吸収・発光特性を調べる。</p>	<p>(自己評価 B)  ・カチオン性置換基を環周辺に有するフタロシアニン亜鉛錯体及びペプチドとカップリング可能なアミノ基を環周辺に導入したフタロシアニン亜鉛錯体を合成し、光吸収・蛍光特性を測定・確認した(B)。  ・燐光発光特性を有すシクロメタレート型イリジウム錯体の薬剤利用に必要な種々の置換基を導入する<u>合成技術を開発・確立し、従来に比べ、500nsec 以上長い発光寿命をもつイリジウム錯体を合成した。また、高い制ガン作用を目指して、脱離容易な塩化物イオンが配位した新規ロジウム四核錯体を開発し、学術雑誌に掲載した(A)</u>。</p>
<p><b>C-2:がん抗体修飾した酸化亜鉛ナノ粒子の合成とその効果の免疫学的確認(磯部, 福田, 藤田)</b>  【達成目標】  ・がん抗体で修飾した酸化亜鉛ナノ粒子によるマウスの癌組織の可視化  ・ナノマテリアルを用いた薬剤耐性がんの克服技術とがん免疫機能向上法の開発  ・酸化亜鉛薄膜の診断機器応用の実用化検討  ・分子標的薬耐性がん細胞に新規フタロシアニンや酸化亜鉛ナノ粒子が有効であるか検証する。</p>	<p>(自己評価 A)  ・がん抗体で修飾した酸化亜鉛ナノ粒子でマウスの癌組織を可視化した。第2高調波用酸化亜鉛ナノ粒子の汎用性を高めるためシリカコート粒子を開発した(B)。  ・肺腺癌 EGFR 阻害薬に対する<u>耐性株を樹立し、マウスを用いて EGFR 阻害薬の薬物動態と組織への薬剤分布を可視化した(A)</u>。  ・酸化亜鉛薄膜の診断機器応用に関して、<u>従来技術を上回る性能が確認できた。特許出願を完了し事業化検討の段階に入った(A)</u>。  ・血液がんである白血病細胞が分子標的薬剤に対する耐性を獲得する分子機構の一つを見出し、治療への方向性を示すことができたが、<u>これらの耐性細胞が新規フタロシアニンや酸化亜鉛ナノ粒子が有効であるかどうかは検証しえていない (C)</u>。</p>

<p><b>C-3:ナタデココの歯科口腔外科への新規応用技術の開発(関根)</b> 【達成目標】 ・ウサギ前頭洞を用いてナタデココ(バクテリアルセルロース)の担体としての有用性について検討する。BMP-2を用いて担体としての効果の有無について組織学的に評価する。</p>	<p>(自己評価 B) ・組織学的検査を進めており、ウサギの解剖学的な特徴を理解しながら評価を進めている。ナタデココにBMP2を含浸させることにより、前頭洞内での骨形成が促進できることを組織学的に確認できた。今年度中には各評価グループ間での骨形成の有意差等について検討できる予定である。</p>
<p><b>C-4:病原菌細胞の細胞内での動態観察・診断を目指した蛍光バイオイメージング(西村)</b> 【達成目標】 ・リアルタイム観察・診断に向けて、酸化亜鉛ナノ粒子で標識した植物病原菌由来ペプチドやカビを用いた二重蛍光イメージングに関する研究を行う</p>	<p>(自己評価 B) ・酸化亜鉛ナノ粒子で標識した病原性細菌プローブあるいはシリカコート型酸化亜鉛ナノ粒子で標識した病原菌プローブの作成が遅れているが、標的分子の細胞内局在を確定させるために、従来の二重蛍光イメージングによるリアルタイム観察・診断をさらに発展・改良し、標的分子の細胞内局在を確定すべく、3重蛍光イメージングの観察系の開発を行った。</p>

(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下さい。)

●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)

グループ A では、ラマン分光法の医学・生物学応用に特化した基礎、応用研究を進めた。基礎研究部門では、ミトコンドリアに異常を持つ AFM マウス(ヘテロ、ホモ)および野生株マウスの、神経細胞の、酸化・還元状態のシトクローム *b*, *c* のラマンスペクトルラマンマッピング測定や、ラットの眼の網膜のラマンスペクトル測定を行った。**飢餓状態の分裂酵母の胞子壁と細胞膜を構成する糖鎖に違いがあることが、ラマン測定法によって明瞭に示された。**ミドリゾウリムシの食胞膜のラマンスペクトルを測定できた。一方、応用研究では、**好酸球形食道炎の診断に必要な光ファイバラマンスペクトル装置実験機を作成した。また、関連する特許申請を行った。**ラマン分光法を用いた新規ラマン診断法の開発に関する共同研究契約を東京農工大学と締結して、癌細胞表面のラマン測定実験を開始した。ポータブルラマン装置を用いて、ヒトと動物の血痕の診断が可能であることが示された。

グループ B では、島根大発の強誘電体を医療応用する研究では、「交流電場→熱」の変換を通して温度を制御できることが分かった。その過程で、**温度を低下することも可能であるという興味深い現象も見出した。**電磁波で病変を高温で焼く「ハイパーサーミア」への応用や音波を成型する「フォノンニック結晶を使った超音波診断技術」への応用が期待される。また、**よりよい「交流電場→熱」の変換効率を目指した材料開発も行い、関連する特許申請を行った。**ラマン分光における基礎技術に関しては、入射光・散乱光を制御したラマン分光システムや Eye Safe な 1.5 μm の波長帯における高密度・高出力パルス光源の開発を行った。新しい光源を使って、応用を念頭に置いて液体表面からのミー散乱の観測に成功した。現在、新光源のラマン散乱の測定に向けたシステムの構築を行っている。

グループ C では、水溶性で、しかも会合抑制によって蛍光特性を失わない環周置換基であるメチル基で嵩高したピリジリカチオンを導入したフタロシアニンの開発、ペプチドとのカップリングに用いるアミノ基の導入のための合成技術確立した。また、シクロメレート型イリジウム錯体を薬剤に応用するために、置換基を導入の新技術確立して、**長寿命燐光特性を有すイリジウム錯体を開発した。**今後、新規に合成した**ロジウム四核の錯体内の塩化物イオンが解離しやすく、DNA の構成塩基との配位による抗ガン作用が期待される。**酸化亜鉛ナノ粒子を活用して、高効率な非線形光学効果(第 2 高調波、2 光子励起)を用いたがん細胞のイメージングに関し、国際会議で 2 件の招待講演を行い、先端的研究者と連携や台湾大学との国際交流に進展した。**酸化亜鉛薄膜について、診断機器等の高性能化に寄与できる性能が確認され、特許出願も完了して事業化検討に入った。**肺腺癌の EGFR 阻害薬に対する**耐性株を樹立し、マウスを用いて EGFR 阻害薬の薬物動態と組織への薬剤分布を可視化できた。**ナタデココの歯科口腔外科への新規応用技術の開発を継続的に行った。二重蛍光イメージングによるリアルタイム観察・診断をさらに発展・改良し、標的分子の細胞内局在を確定するための3重蛍光イメージングの観察系の開発を行った。

以上、本重点研究プロジェクトは、三つのグループとも、全体として順調に進捗しており、一部の研究では、年度当初の目標を越えた新規研究につながっている。これらの点を評価して、**全体評価を(A)とした。**

●各グループ間の連携状況

本重点研究プロジェクトは、三つの大グループに分かれているが、異分野間の連携体制を重視している。その成果として、ラマン分光法に関連した研究成果が、グループ B でも挙がっている。C-1 で合成した水溶性フタロシニンを用いて研究の開始が、C-2 の一部の研究者によって計画されている。また、C-2 で開発したナノ粒子は、C-4 においても活用されている。これらの結果は、共同の学会発表や論文などとして、具体的に成果が表れている。

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)	65	+ 著書・総説 6
学会発表 (総件数)	170(内国際学会 48)	+ 招待講演 12
特許出願 (総件数)	3	+ 特許公開 1

【内訳】

●論文

1. K. Takezawa, K. Yoshikiyo and T. Yamamoto, Thermodynamic and structural studies on the complexation of guanidino-appended α-cyclodextrin derivatives with *p*-nitrophenolate ion for consideration, *J. Mol. Struct.* 1108, 80-86, 2016.

2. N. Ishimura, S. Shimura, DJ Jiao, H. Mikami, E. Okimoto, G. Uno, M. Aimi, N. Oshima, S. Ishihara, Y. Kinoshita, Clinical features of eosinophilic esophagitis: Differences between Asian and Western populations. *J. Gastroenterol Hepatol.* 30(Suppl. 1), 71-77, 2015.
3. D. Moriyama, K. Hosono, M. Fujii, M. Washida, H. Nanba, T. Kaino, M. Kawamukai, Production of CoQ10 in fission yeast by expression of genes responsible for CoQ10 biosynthesis, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 79, 1026-1033, 2015.
4. M. Kawamukai, Biosynthesis of coenzyme Q in eukaryotes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 80, 23-33, 2016.
5. J. Fujihara, M. Tongu, H. Hashimoto, T. Yamada, K. Kimura-Kataoka, T. Yasuda, Y. Fujira, H. Takeshita, Distribution and toxicity evaluation of ZnO dispersion nanoparticles in single intravenously exposed mice. *J Med Invest*, 62, 45-50, 2015.
6. S.H. Shin, J.-H. Ko, S. Tsukada, Y. Akishige, K. Roleder, and D. Rytz, Influence of KF substitution on the ferroelectric phase transition of lead titanate single crystals studied by Brillouin light scattering, *J. Advanced Dielectrics*, 5, 155011/1-6, 2015.
7. H. Hashimoto, R. Tanino, M. Nakamura, Y. Fujita, Surface Treatment of Zinc Oxide Nanoparticles by Silica Coating and Evaluation of Their Dispersibility and Photoluminescent Properties, *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology*, 13, 451-454, 2015.
8. Y. Kataoka, N. Yano, T. Kawamoto, and M. Handa, Isolation of the Intermediate in the Synthesis of Paddlewheel-type Dirhodium Tetraacetate, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 34, 5650-5655, 2015.
9. K. Yuuki and M. Fujishima, Differences in infectivity of endosymbiotic *Chlorella variabilis* that are cultivated outside the host *Paramecium bursaria* for 50 years and that are immediately isolated from the host cells after 1 year reendosymbiosis. *Biology Open*, 0, 1-7, 2015.
10. K. Nishimura, E. Matsunami, S. Yoshida, S. Kohata, J. Yamauchi, M. Jisaka, T. Nagaya, K. Yokota, and T. Nakagawa, The tyrosine-sorting motif of the vacuolar sorting receptor VSR4 from *Arabidopsis thaliana*, which is involved in the interaction between VSR4 and AP1M2,  $\mu$ 1-adaptin type 2 of clathrin adaptor complex 1 subunits, participates in the post-Golgi sorting of VSR4, *Biosci Biotechnol Biochem.*, 6:1-12, 2016.

他, 55 件

### ●学会発表

1. T. Yamamoto, M. Kawamukai, Y. Kinoshita, A. Nagai, and H. Hamaguchi, BIOMEDICAL APPLICATIONS OF RAMAN SPECTROSCOPY Medical Diagnosis, 2nd Symposium on Weak Molecular Interaction, Tokyo, Mar., 2015, invited.
2. 大嶋直樹, 石村典久, 木下芳一. ワークショップ: 内視鏡を用いた分子生物学的手法による病態解明; 好酸球を可視化する〜ラマン分光法を用いた好酸球性食道炎の診断〜. 第 89 回日本消化器内視鏡学会総会, 2015
3. M. Kawamukai, Biosynthesis and various roles of coenzyme Q in yeasts. The 7th international CoQ meeting, Bologna, Italy, Oct., 2015.
4. 原克典, 高井保幸, 海津幸子, 大平明弘, エステル体・フリー体ルテイン投与による黄斑色素密度及び血中ルテイン濃度変化の比較. 第 119 回日本眼科学会総会. 札幌, 2015.
5. T. Isobe, Y. Tsubata, R. Tanino, Y. Mori, M. Nakao, Y. Amano, T. Hotta, N. Koba, M. Hamaguchi, T. Okimoto, T. Hoshino, S. Hamaguchi, A. Sutani, Y. Awaya, H. Takeyama, M. Fujita and A. Hamada: The evolution of targeted therapy in non-small cell lung cancer. The 3rd Three Universities' Consortium International Symposium, Tsu, Dec., 2015

他, 165 件

### ●特許出願

1. 山本達之, ヘマンス・ヌータラパティ, 上村魁, 濱口宏夫, 安藤正浩「ラマン散乱光の観測方法、ラマン散乱光の観測装置及びプログラム」, 特願 2016-007565, 2016 年 1 月 19 日(出願)
2. 秋重幸邦, 塚田真也. 企業から 3 名, セラミックスに関する内容, 特願, (出願)

他, 出願 1 件, 公開 1 件

### 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)		18	配分額 41,890
(2) 科研費以外の外部資金	受託研究	3	21,324
	共同研究	4	1,048
	寄附金・助成金	8	8,159
	合計	33	72,421

### 【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。)

1. 基盤(B) 「ラマン分光法を用いた, 好酸球性食道炎の非生検診断法の開発」(山本達之) 4,160 千円
2. 基盤(B) 「真核生物のコエンザイム Q 生合成反応の解明」(川向誠) 2,500 千円
3. 若手(A) 「ZnO ナノ粒子による毒性影響の分子機構解析」(藤原純子) 9,490 千円
4. 若手(B) 「光機能性ポリヘドロン型超分子金属錯体の創成と高効率水素生成触媒への展開」(片岡祐介) 4,160 千円
5. 若手(B) 「フォノンを通して観るリラクサー強誘電体の巨大応答と MPB」(塚田真也) 780 千円
6. 若手(B) 「細胞内共生成の分子機構と細胞内共生の進化的意義の解明」(児玉有紀) 1,040 千円
7. 基盤(C) 「コエンザイム Q が関与するシステイン代謝における酸化ストレス制御機構の解析」(戒能智宏) 2,470 千円
8. 基盤(C) 「小児白血病の中枢神経浸潤に対する分子基盤解明と新規治療法開発」(福田誠司) 1,040 千円
9. 基盤(C) 「好酸球性食道炎の病態に及ぼす胃酸の影響についての研究」(木下芳一) 1,040 千円

10. 挑戦的萌芽「ミドリゾウリムシクロレラ共生系のPV膜分化機構のラマン分光法による解明」(山本達之)1,690千円
  11. 挑戦的萌芽「ZnO粒子塗布型近紫外線発光ダイオードの開発」(藤田恭久)1,170千円
  12. 新学術領域研究(研究領域提案型)「多核金属錯体のボトムアップ化による高効率水素発生の実現と理論的なメカニズム解明」(片岡祐介)1,690千円
  13. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))「新生児期から高年期まで対応した、好酸球性消化管疾患および稀少消化管持続炎症症候群の診断治療指針、検査治療法開発に関する研究」(木下芳一)2,500千円
- 他、基盤(C)3件、学術研究助成基金助成金1件、AMED研究費1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。)

1. 受託研究「革新的光通信インフラの研究開発」, 情報通信研究機構(NICT)(増田浩次)9,344千円
  2. 受託研究「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業(シーズ創出ステージ Bタイプ)」(川向 誠)10,000千円
  3. 受託研究「色素増感太陽電池におけるフタロシアニン誘導体を利用した新規色素材料の合成」, 公益財団法人しまね産業振興財団(池上崇久)1,980千円
  4. 共同研究「酸化亜鉛ナノ粒子蛍光体の開発」民間企業との共同研究(藤田恭久)1,000千円
  5. 助成金「ラマン分光法の医療応用に関する交流」(さくらサイエンスプラン, JST)(山本達之)1,142千円
  6. 助成金「角度分解偏光ラマン分光を用いたテンソル量の定量的評価と強誘電性相転移」村田学術振興財団(塚田真也)1,300千円
  7. 助成金「マルチプローブ融合利用による新奇強誘電体材料の物性解明」豊田理化学研究所(塚田真也)2,000千円
- 他、共同研究3、寄付金・助成金5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)

**1. 研究プロジェクト以外の研究成果**

- 産業技術総合研究所の深津武馬教授との共同研究により、キシロース資化能を有する新規酵母のラマンマッピング実験の結果、未知のヘム酵素と思われる物質が、ダンシングビディーと呼ばれる顆粒球に局在していることを新規に見出した。
- 本学生命工学科の石川孝博教授との共同研究により、バイオジェット燃料への応用が期待されている、ユーグレナ細胞中のワックスエステルのラマンスペクトルを測定し、その細胞内動態を好気条件と嫌気条件で比較することに成功した(図1)。

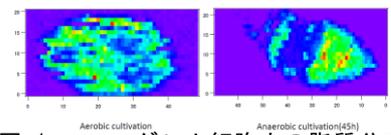


図1. ユーグレナ細胞内の脂質分布のラマンイメージング(左:好気条件, 右:嫌気条件, 赤い部分ほど脂質濃度が高い)

**2. シンポジウム・研究会の開催**

- 公開シンポジウム「生物の共生進化を考える」を本学で企画して開催(2015年6月)
- 第20回中国・四国・北九州地区誘電体セミナーを開催(2015年6月)
- 日本物理学会秋季大会において、シンポジウム「誘電体と先端光工学」を企画して開催(2015年9月)
- 第13回医用分光学会を東京で主催(2015年12月)
- 肺癌国際シンポジウムを開催(2016年1月)
- 第1回日台医用分光学会国際シンポジウムを企図路島で実施予定(2016年12月4~7日)



写真1. 受賞した矢野さん

**3. 受賞**

- 2015年日本化学会中国四国支部大会(岡山大学津島キャンパス, 日本化学会中国四国支部)において、物質化学コース・博士前期課程1年の矢野なつみさん(指導教員:半田真教授, 片岡祐介助教)が優秀ポスター賞を受賞(写真1)

**4. 展示会出展**

- 出雲産業フェア(出雲ドーム2015年10月31日~11月1日)に出展(藤田, 西村)
- Nanotech2016(東京ビッグサイト, 2016年1月27~29日)に出展(写真2)

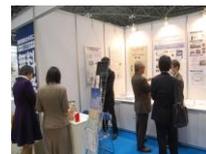


写真2. Nanotech 2016の様子



写真3. 台湾国際ラマン会議で発表する学生

**5. 国際連携**

- 総合医セミナー「がん治療の最前線(米国腫瘍内科医が語る)」を開催(講師:サウスカロライナ医科大学 腫瘍内科 白井敬 准教授, 2015年4月25日)
- 日月潭(台湾)で開催された、第3回台湾国際ラマン会議(TARS)およびサマーキャンプに、総合理工学研究科と生物資源科学研究科の大学院生を引率して参加させた(2015年6月30~7月3日, 写真3)
- 医・生物ラマンプロジェクトセンター, 台湾大学分子イメージングセンター(2015年2月に交流協定締結)の教授4名を本学に招き、共同研究打ち合わせを行った(2015年9月10, 11日, 写真4)
- バナラス・ヒンドゥー大学の学生5名を、JST「さくらサイエンスプラン」事業の支援により本学に招いて、ラマン分光法に関する講義や実験を受けさせた(2016年1月20~23日, 写真5)



写真4. 本学附属病院を見学する台湾大学の教授ら



写真5. ラマン分光装置を見学する学生たち

**6. 学術交流協定**

- バナラス・ヒンドゥー大学(インド)と大学間交流協定を締結(5月)
- コーチ工科大学(インド)と交流協定締結交渉中(2016年度前期を予定)

**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.ラマン分光学の医生物応用**

**A-1:酸化ストレスの影響等が細胞代謝に及ぼす影響のラマン分光法による評価**

AFMマウス(ホモ, ヘテロ)および野生マウスの神経細胞のラマンスペクトルを測定し、階層的クラスター解析を行った結果、シクロローム *b*, *c* のヘム由来のラマンスペクトル成分を分離し、ラマンマッピングによって可視化できた。ヒト網膜を測定するための基礎データを集める目的で、ラットの凍結眼のラマンスペクトル測定を行ない、網膜のラマンスペクトル測定を得た(図2)

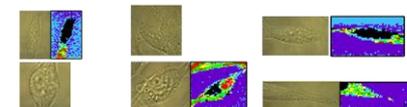


図2. AMSマウス細胞の光学像とラマンマッピング; AMSホモマウス(左), AMSヘテロマウス(中央), 健康マウス(右)

## A-2: 細胞内の代謝物質の時空間分解ラマン分光測定

時空間分解 2次元ラマンスペクトルの多変量解析の結果、飢餓状態の分裂酵母が形成する胞子壁を構成する糖鎖と、栄養増殖中の細胞膜を構成する糖鎖では、糖鎖の種類と割合が異なることを、あるがままの生細胞を用いて世界で初めて視覚することに成功した(図3)

## A-3: ドリゾウリムシ-クローラ共生過程のラマン分光法による解析

ドリゾウリムシに高分子ビーズを取り込ませる方法により、食胞膜のラマン分光測定と解析を行うことが出来た。成蹊大学の青柳准教授の協力を得て、食胞膜とPV膜のTOF-SIMSスペクトル測定を依頼して、27年度中に解析終了の予定である

## A-4: 好酸球食道炎のラマン分光法による新規診断技術の開発

ヒトの血液から分画した白血球を注射したマウス食道を用いて、好酸球のラマン分光測定に成功し、モデルマウスを用いたラマン測定に必要な、光ファイバラマン装置を開発した。ヒトの食道で使用できる内視鏡装置可能なラマンプローブ開発を28年度から開始できるよう、協力企業と、具体的な打ち合わせを開始した。

## A-5: ラマン分光法による病理診断技術の開発

培養癌細胞のラマン分光測定を行って、細胞表面を中心としたラマンマッピング測定を開始した。細胞診断技術開発に必須な、細胞アレイ技術を有する、東京農工大学と研究協力協定を締結した。

## A-6: ポータブルラマン分光装置を用いた法医学および食品科学への応用

ヒトとマウスの血液痕のラマン分光測定して比較した。主成分解析を行った結果、ヒトとマウスのラマン分光測定を区別できることが分かった。他手法との組み合わせにより、血液痕から動物の種類の区別が出来る可能性も示された。島根県特産のエゴマ油分子の炭素二重結合(C=C)に由来するラマンバンド強度を、「HAMAND」により解析した結果、エゴマ油の酸化状態の変化をラマン分光測定によって評価できることが示された。

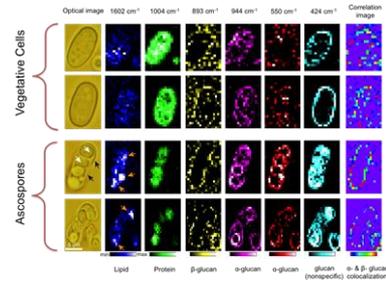


図3. 通常の分裂酵母(上段2列)と胞子形成中の分裂酵母(下段2列)の光学像とラマンイメージ(胞子中には $\alpha$ グルカンだけでなく、 $\beta$ グルカンが存在しない)



図4. ラマンプローブを用いた実験

## B. 新規超音波診断技術・近赤外分光技術等の基礎的研究

### B-1: チタン酸バリウムナノ粒子を用いた新規超音波診断技術の開発

このテーマで、幾つか興味深い進展があった。島根大発の強誘電体による「交流電場→熱」変換によって、温度を10度程度の範囲で、自由に上げたり下げたりできることが分かった(図5)。さらに効率の高い「交流電場→熱」変換を求めて、新たな強誘電体の探索を行った結果、 $(\text{Sr}_{1-x}\text{Ba}_x)_2\text{Nb}_2\text{O}_7$ セラミックス、Ba-Ti-O系のコンポジットセラミックスの開発を行った。企業と特許を出願した。また、誘電体を評価する装置の開発を行った。相図作成のために「1000度以上で誘電率が測れるシステム」や「偏光を制御したラマン分光システム」を立ち上げた。特に、「偏光を制御したラマン分光システム」はインパクトが大きく、豊田理化学研究所の特定課題研究やリトアニアとの学振二国間交流事業に採択された。

### B-2: 新規ラマン分光技術の開発

1.5  $\mu\text{m}$ の波長帯における高密度・高出力光源を開発して、液体表面の光散乱観測を行った。ミー散乱が主に観測され、濁度に関する知見を得た。この成果で、液体表面におけるラマン散乱観測が見えてきた。

## C. ナノマテリアルの応用とメカニズム解明

### C-1: フタロシアニンなど拡がった $\pi$ 共役系を持つ可溶性錯体を用いた光線力学治療(PDT)など医療技術への応用・開発

カチオン性置換基を環周辺に有するフタロシアニン亜鉛錯体及びペプチドとカップリング可能なアミノ基を環周辺に導入したフタロシアニン亜鉛錯体を合成し、光吸収・蛍光特性を測定・確認した。燐光発光特性を有するシクロメタレート型イリジウム錯体の薬剤利用に必要な種々の置換基を導入する合成技術を開発・確立し、従来に比べ、500nsec以上長い発光寿命をもつイリジウム錯体を合成した(図6)。また、高い制ガン作用を目指して、脱離容易な塩化物イオンが配位した新規ロジウム四核錯体を開発し、学術雑誌に掲載した。

### C-2: がん抗体修飾した酸化亜鉛ナノ粒子の合成とその効果の免疫学的確認

がん抗体で修飾した酸化亜鉛ナノ粒子でマウスの癌組織を可視化した。第2高調波用酸化亜鉛ナノ粒子の汎用性を高めるためシリカコート粒子を開発した。肺腺癌EGFR阻害薬に対する耐性株を樹立し、マウスを用いてEGFR阻害薬の薬物動態と組織への薬剤分布を可視化した。酸化亜鉛薄膜の診断機器応用に関して、従来技術を上回る性能が確認できた(図7)。特許出願を完了し事業化検討の段階に入った。血液がんである白血病細胞が分子標的薬剤に対する耐性を獲得する分子機構の一つを見出し、治療への方向性を示すことができた。

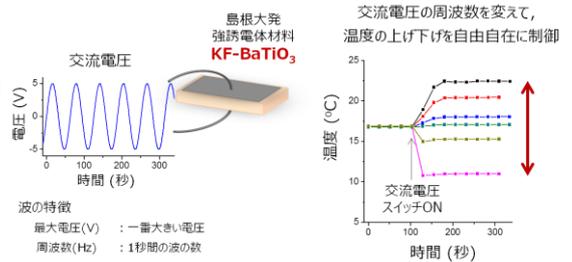


図5. 電磁波(交流電場)→熱の変換による温度制御

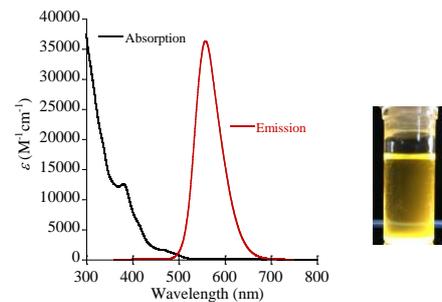


図6. 従来よりも500nsec以上長い発光寿命をもつシクロメタレート型イリジウム錯体(右)とその特性スペクトル(左)

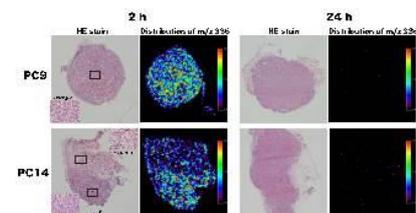


図7. 幾つかのEGFR阻害薬を投与した組織の光学像(左)と、その蛍光イメージング(右)

### C-3: ナタデココの歯科口腔外科への新規応用技術の開発

組織学的検査を進めており、ウサギの解剖学的な特徴を理解しながら評価を進めている。ナタデココに BMP2 を含浸させることにより、前頭洞内での骨形成が促進できることを組織学的に確認できた。

### C-4: 病原菌細胞の細胞内での動態観察・診断を目指した蛍光バイオイメージング

酸化亜鉛ナノ粒子で標識した病原性細菌プローブあるいはシリカコート型酸化亜鉛ナノ粒子で標識した病原菌プローブの作成が遅れているが、標的分子の細胞内局在を確定させるために、従来の二重蛍光イメージングによるリアルタイム観察・診断をさらに発展・改良し、標的分子の細胞内局在を確定すべく、3重蛍光イメージングの観察系の開発を行った(図8)。

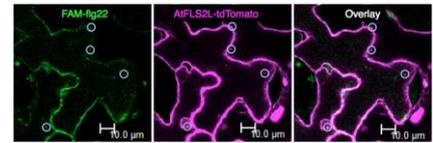


図 8. 2重蛍光イメージングを発展させた3重蛍光イメージング

## ⑩研究成果の教育への還元について (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。)

### ●医理工農連携プログラム・学際的副専攻

医理工農連携プログラムの学生の研究環境を提供し、両キャンパスをまたがり研究を行う学生を支援している。H27年度は学生グループが附属病院の検査部の課題を解決するためのプロジェクト実習の支援を行った。また、ラマンイメージング法を活用した医学部病理学講座、法医学講座における応用研究など、修士論文と学際的卒業研究の指導を行った。総合理工学部の1年生の基礎セミナーでは、ラマン分光法をつかった食品の脂質の分析のPBL教育を実施した(写真6)



写真 6. ラマン分光法を使って食品の脂質分析を行う総合理工学部1年生

### ●COCおよびCOC+事業との連携

COC事業に関連した、公開講座(7月に2回)を実施して、重点研究プロジェクトに関連した研究成果を市民に分かり易く解説した。12月に開催された、COC+事業キックオフセミナーに参加して、松江市などの周辺自治体との連携を深めたと共に、学生が市民と接する機会を与えた(写真7)。

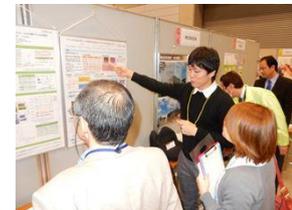


写真 7. COC+キックオフセミナーで研究成果を説明する学生

### ●初等理科教育等への研究成果の還元

島根ワクワクサイエンスクラブ 指導者、忌部小学校「エネルギーに関する出前授業」講師、第59回日本学生科学賞島根県展・第68回島根県科学作品展 審査員、筑波大学数理物質科学研究科 非常勤講師「振動分光学」、教育学部「環境寺子屋」事業、小中高校の教員対象の物理に関するセミナー「リフレッシュ理科教室」の実行委員、島根県中学生創造アイデアロボットコンテスト大会 審査員などを歴任した(いずれも塚田)。

### ●国際交流

交流協定のある、台湾(国立台湾大学、国立交通大学、国立師範大学)、インド(インド科学大学、バナラス・ヒンドゥー大学)など、アジアの先進的の大学との交流を深め、国立台湾大学の教授4名との研究打ち合わせ、バナラス・ヒンドゥー大学の学生5名へのラマン分光法に関する教育などを行った。その他、リトアニアとの国際交流(平成28年度日本学術振興会二国間交流事業オープンパートナーシップ共同研究)に採択、研究代表者:小島政治(筑波大)、Juras Banys(ピリニウス大)、日本側参加者:塚田真也 他 研究者1名、学生2)や、交流の深いノーステキサス大学を訪問して、学生への教育支援を行った。

## ⑪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育成プランについての取り組みの結果を記入してください。)

### 1.若手研究者育成プラン

#### ●研究発表や展示会への参加の促進

若手研究者や学生を、国際学会や関連したサマーキャンプ等に積極的に参加させた。出雲産業フェア、nanotech2016 展示会などにも参加を促して、来場者との交流に伴う体験的学習の機会を提供するように配慮した。重点研究メンバーが主催した学会、シンポジウムに、医学、教育、総合理工、生物資源などの各大学院学生ら参加させ、発表や運営に参加させて、研究者との交流の機会を与えた。

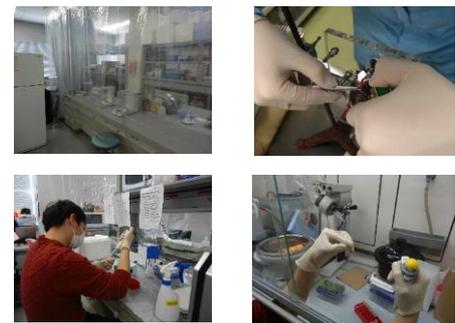


写真 8. 研修を行う若手研究者

#### ●地域貢献に対応した人材の養成

COC、COC+事業に関連して、PBL 授業に学生を参加させ、地元企業で体験的学習を行った。訪問した企業の研究者との共同作業により、現場で必要なスキルやコミュニケーション能力を育成した。

#### ●研修など

呼吸器・臨床腫瘍学主任研究員の谷野良輔さんを、共同研究大学である東京理科大学野田キャンパス薬学部にて研修させた(磯部、写真8)。また、3rd China Japan Symposium on Nanomedicine において、助教に招待講演と座長の機会を提供した。International Symposium on Nanomedicine(ISNM2015)を主催(日本ナノメディシン交流協会、運営委員長)、2015年12月10~12日、三重大学(予定)において本学の若手研究者2名に招待講演と座長の機会を提供するなど学会活動の支援を行った。

### 2.若手研究者育成の成果

重点研究プロジェクトに関連した研究テーマにより、若手研究者が、若手(A)1件、若手(B)3件を獲得した。本年度から、若手重点研究メンバーの一人が、重点研究のグループリーダーの一人として、グループをまとめ、計画を超えた成果を挙げた。プロジェクトセンター付きの助教として採用された、若手外国人研究者(ヘマンス助教、林助教)が、各々テーマA-1~A-5、C-2などに積極的に関わり、研究成果を挙げた。