

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：再生医療実現拠点ネットワーク 技術開発個別課題
Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine Projects for
Technological Development

研究開発課題名：iPS 細胞分化・がん化の量子スイッチング *in vivo* Theranostics
Quantum-switching *in vivo* theranostics for induced pluripotent stem (iPS) cell differentiation and
carcinogenesis

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

研究開発担当者 国立大学法人名古屋大学 教授 馬場 嘉信
所属 役職 氏名： Professor, Yoshinobu baba, Nagoya University

分担研究 肝臓領域での幹細胞移植療法の効果検証
開発課題名： The demonstration of stem cell therapy using quantum dots in the liver failure

研究開発分担者 国立大学法人名古屋大学 教授 石川 哲也
所属 役職 氏名： Professor, Tetsuya Ishikawa, Nagoya University

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合 (和文)

研究開発項目1. : 生体適合性と幹細胞標識能を有する量子・磁気ナノハイブリッド材料の創製

田畑泰彦教授(京都大学 ウィルス再生医科学研究所:分担研究者)らと共同で開発した、量子ドットや磁性ナノ粒子を生体適合性カプセル材料(ゼラチン)に高効率に内包させる方法により創製した量子・磁気ナノハイブリッド材料を用いて、3種類の蛍光波長の異なる量子ドットと磁性ナノ粒子による体性幹細胞のマルチモーダルイメージングに成功することが出来た。また、量子・磁気ナノハイブリッド材料が幹細胞の機能に及ぼす影響についても、検証を進めることができた。更に、開発した低毒性量子ドットは商品化に向けて開発が進んでいる (2017 年秋ごろ商品化予定)。

研究開発項目 2. : 量子スイッチングによる幹細胞がん化・分化 *in vivo* Theranostics 手法の構築

田畑泰彦教授(京都大学 ウィルス再生医科学研究所:分担研究者)らと共同で、生体適合性カプセル材料(ゼラチン)でカプセル化した量子・磁気ナノハイブリッド材料による移植幹細胞 *in vivo* マルチモーダルイメージングに成功し、ハイパーサーミア効果についても確認することが出来た。更に、疾患・組織別実用化研究拠点(3拠点以上)の先生方との共同研究において、ヒトiPS細胞由来再生細胞を標識することが可能であり、且つ *in vivo* イメージングが可能であることを明らかにした。

研究開発項目 5. : 骨・軟骨領域での幹細胞移植療法の効果検証

エマルション法を用いて、複数種類の量子ドットと磁性ナノ粒子を内包したゼラチンナノ粒子(量子・磁気ナノハイブリッド材料)を作製した。得られた量子・磁気ナノハイブリッド材料を用いて、妻木範行教授(京都大学 iPS 細胞研究所)との連携研究で得られたヒト iPS 細胞由来軟骨細胞に対する標識法の検討を行った。生物機能によって蛍光強度が変化する機能性量子ドットの作製を試みた。

研究開発項目 7. : 肝臓領域での幹細胞移植療法の効果検証

石川哲也教授(名古屋大学大学院医学系研究科:分担研究者)らと共同で、IVIS LuminaK Series III (本プロジェクトで購入)を用いて、急性肝不全モデルマウスに対して、世界で初めて移植幹細胞 *in vivo* リアルタイムイメージングに成功することが出来た。また、多光子励起顕微鏡を駆使することで、肺や肝臓内で集積し、定着する移植幹細胞を1細胞レベルで検出することに成功し、少なくとも1週間以上の高感度 *in vivo* イメージングに耐えうることが証明された。更に、本モデル系において、特に、肝不全状態が重度な状況下で幹細胞を移植した場合、幹細胞の患部(肝臓)への定着割合が低いことを明らかにすることが出来た。

研究開発項目8. : 近赤外 *in vivo* 蛍光イメージングシステムによる生体深部イメージング系の構築

昨年度より調整費により多違った研究項目であるが、近赤外蛍光ナノ材料の開発、及び *in vivo* 蛍光イメージングにおいて、成果を挙げることが出来た。まずは、鳥本 司教授(名古屋大学大学院工学研究科)らと共同で、 AgInTe_2 から構成される1,100 nm付近に近赤外蛍光を発する量子ドットを開発し、調整費で購入させて頂いたSAI-1000の測定機器を使用することで、*in vivo* 蛍光イメージングに成功した。また、新岡宏彦助教(大阪大学大学院基礎工学研究科)らと共同で、1,550 nm付近に近赤外蛍光を発するランタノイド(希土類)ナノ粒子を用いて、マウスを脱毛することなく、移植細胞の *in vivo* イメージングに成功した。

・ 研究開発代表者による報告の場合 (英文)

In vivo multi-modal imaging of transplanted stem cells using quantum/magnetic nano-hybrid materials was succeeded by the collaboration with Professor Yasuhiko Tabata at the Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University. The influence of quantum/magnetic nano-hybrid materials on stem cells were investigated, and then no cytotoxicity of the materials could be confirmed. In addition, the safe cadmium-free aqueous ZnS coating of ZnS-AgInS₂ quantum dots, which were developed in this project, are going to be commercialized in this year.

The hyperthermia effect of quantum/magnetic nano-hybrid materials to cancer cells could be confirmed. Moreover, human iPS cells and regenerated cells derived from human iPS cells could be labeled with quantum/magnetic nano-hybrid materials, and the *in vivo* imaging of transplanted cells labeled with quantum/magnetic nano-hybrid materials could be carried out in model mice.

Gelatin nanoparticles incorporating multiple types of quantum dots and iron oxide nanoparticles (GNP) were prepared by the conventional emulsion method. The labeling procedure was developed for chondrocytes derived from human iPS cells (iPS-chondrocytes), which was obtained by the collaboration with Professor Noriyuki Tsumaki at the Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University. In addition, a functional quantum dot in which the fluorescence intensity is changed by the biological function of cells, was tried to prepared.

In vivo real time imaging of transplanted stem cells in acute liver failure mice could be succeeded for the first time in the world using IVIS LuminaK Series III by the collaboration with Professor Tetsuya Ishikawa at the Department of Medical Technology, Nagoya University. In addition, the transplanted stem cells could be detected at one cell level using multiphoton excitation laser scanning microscope, and then the cells could be detected for at least one week. Moreover, the engraftment rate of transplanted stem cells in the failure liver were found to be dependent on the state of liver failure.

Novel AgInTe₂ quantum dots were developed by the collaboration with Professor Tsukasa Torimoto at the Department of Crystalline Materials Science, Nagoya University, which the fluorescence maximum wavelength of the quantum dots were 1,100 nm. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging of transplanted AgInTe₂ quantum dots using SAI-1000 *in vivo* imaging system. In addition, novel lanthanoid particles Y₂O₃:Ln (Ln = Tm, Er) were developed by the collaboration with research associate Hirohiko Niioka at the Graduate School of Engineering Science, Osaka University, which the fluorescence maximum wavelength of the quantum dots were 1,550 nm. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging of transplanted cells labeled with lanthanoid particles using SAI-1000 *in vivo* imaging system.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 3 件、国際誌 8 件)

(国際誌)

1. Kameyama T., Ishigami Y., Yukawa H., Shimada T., **Baba Y.**, **Ishikawa T.**, Kuwabata S., Torimoto T. Crystal phase-controlled synthesis of rod-shaped AgInTe₂ nanocrystals for in vivo imaging in the near-infrared wavelength region. *Nanoscale*. 2016; 8(10): 5435-5440.
2. Yoshizumi Y., Yukawa H., Iwaki R., Fujinaka S., Kanou A., Kanou Y., Yamada T., Nakagawa S., Ohara T., Nakagiri K., Ogihara Y., Tsutsui Y., Hayashi Y., Ishigami M., **Baba Y.**, **Ishikawa T.** Immunomodulatory effects of adipose tissue-derived stem cells on concanavalin A-induced acute liver injury in mice. *Cell Medicine*, 2016; 9: 21-33.
3. Fukushima S., Furukawa T., Niioka H., Ichimiya M., Onoshima D., Yukawa H., **Baba Y.**, Miyake J., Ashida M., Hashimoto M. Correlative near-infrared light and cathodoluminescence microscopy using Y₂O₃:Ln, Yb (Ln = Tm, Er) nanophosphors for multiscale, multicolour bioimaging. *Scientific Reports*, 2016; 6: 25950.
4. Dung D.T.K., Fukushima S., Furukawa T., Hirohiko N., Sannomiya T., Kobayashi K., Yukawa H., **Baba Y.**, Hashimoto M., Miyake J. Multispectral emissions of lanthanide-doped gadolinium oxide nanophosphors with cathodoluminescence and upconversion/downconversion imaging. *Nanomaterials*, 2016; 6: 163.
5. Ogihara Y., Yukawa H., Kameyama T., Nishi H., Onoshima D., **Ishikawa T.**, Torimoto T., **Baba Y.** Labeling and in vivo visualization of transplanted adipose tissue-derived stem cells with safe cadmium-free aqueous ZnS coating of ZnS-AgInS₂ nanoparticles. *Scientific Reports*, 2017; 7: 40047.
6. Pillai S.S., Yukawa H., Onoshima D., Biju V., **Baba Y.** Förster resonance energy transfer mediated photoluminescence quenching in stoichiometrically assembled CdSe/ZnS quantum dot-peptide labeled black hole quencher conjugates for matrix metalloproteinase-2 sensing. *Analytical Science*, 2017; 33(2): 137-142.
7. Ogihara Y., Yukawa H., Onoshima D., **Baba Y.** Transduction function of a magnetic nanoparticle TMADM for stem-cell imaging with quantum dots. *Analytical Science*, 2017; 33(2): 143-146.
8. Yukawa H., **Baba Y.** In vivo fluorescence imaging and the diagnosis of stem cells using quantum dots for regenerative medicine. *Analytical Chemistry*, 2017; 89: 2671-2681.

(国内誌)

1. 湯川 博, **馬場嘉信**. 量子ドットによる移植幹細胞の生体内イメージング, 光学, 2016; 45 巻 10 号号, 386-391.
2. 湯川 博, **馬場嘉信**. 移植幹細胞 in vivo 蛍光イメージングが再生医療創薬研究に果たす役割 ~ライブイメージングを利用した細胞・生体の機能解析~, *Drug Delivery System*, 2016; 31-2, 135-145.
3. 湯川 博, 小林香央里, 新岡宏彦, 亀山達矢, 佐藤和秀, 鳥本 司, 石川哲也, **馬場嘉信**. NIR-II 近赤外領域における移植幹細胞 in vivo 蛍光イメージング, *BIOINDUSTRY*, 2017; 34(1), 27-34

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

(口頭)

1. 湯川 博、量子ナノ材料による移植幹細胞 *in vivo* イメージング手法の構築、nano tech 2017、東京、2月、2017年 (特別シンポジウム講演)
2. 小林香央里、湯川 博、村田勇樹、城潤一郎、小野島大介、山本雅哉、石川哲也、田畑泰彦、馬場嘉信、量子・磁気ナノハイブリッド粒子を用いた幹細胞イメージング・ハイパーサーミア効果、日本化学会第97春季年会、東京、3月、2017年
3. 中村公亮、小野島大介、湯川 博、田中宏昌、石川健治、堀 勝、馬場嘉信、がん幹細胞診断に向けた1細胞アレイ化デバイスの開発、日本化学会第97春季年会、東京、3月、2017年
4. 湯川 博、吉住寧真、有本知子、石川哲也、馬場嘉信、量子ドットによる移植幹細胞 *in vivo* 蛍光リアルタイムイメージング、第16回日本再生医療学会、仙台市、3月、2017年
5. 湯川 博、馬場嘉信、量子ドットによる移植幹細胞 *in vivo* 蛍光リアルタイムイメージング、第43回日本臓器保存生物医学会、東京、11月、2016年 (シンポジウム講演)
6. 湯川 博、石川哲也、馬場嘉信、量子ドットによる移植幹細胞 *in vivo* 蛍光イメージング手法の構築、日本バイオマテリアル学会シンポジウム2016、博多、11月、2016年 (シンポジウム講演)
7. 湯川 博、馬場嘉信、新規磁性ナノ粒子による量子ドット幹細胞ラベリング手法の構築、日本学術振興会第116委員会、東京、10月、2016年
8. 湯川 博、石川哲也、馬場嘉信、量子ドットによる高効率幹細胞ラベリング手法の構築、第37回日本炎症・再生医学会、京都、6月、2016年 (優秀演題賞受賞)
9. 名仁澤英里、吉住寧真、平野文香、林 由美、湯川 博、馬場嘉信、石川哲也、マウス急性肝障害モデルにおける脂肪由来幹細胞移植後の生体内動態解析、第37回日本炎症・再生医学会、京都、6月、2016年
10. 村田勇樹、城潤一郎、田畑泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子の調製、第62回高分子研究発表会、神戸、7月、2016年
11. 村田勇樹、城潤一郎、田畑泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子を用いた複合細胞イメージング、日本バイオマテリアル学会第11回関西若手研究発表会、神戸、8月、2016年

(ポスター)

1. 内田健太郎、小野島大介、湯川 博、石川健治、堀 勝、馬場嘉信、迅速微生物測定に向けた1細胞分離検出デバイスの開発、日本化学会第97春季年会、東京、3月、2017年
2. 小林香央里、湯川 博、村田勇樹、城潤一郎、小野島大介、山本雅哉、石川哲也、田畑泰彦、馬場嘉信、量子・磁気ナノハイブリッド材料を用いた幹細胞イメージングおよびハイパーサーミア効果、第16回日本再生医療学会、仙台、3月、2017年
3. 村田 勇樹、城 潤一郎、近藤 蓉子、田畑 泰彦、複合細胞イメージングを目的とした量子ドット・磁性ナノ粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子の作製、日本分子イメージング学会第11回学会総会・学術総会、神戸、5月、2016年

4. 村田 勇樹、城 潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子を用いた複合細胞イメージング、第 32 回日本 DDS 学会学術集会、静岡、6、7 月、2016 年
5. 村田勇樹、城潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子による細胞イメージング、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016、福岡、11 月、2016 年
6. 村田 勇樹、城 潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子による酵素反応のイメージング、第 16 回日本再生医療学会総会、仙台、3 月、2017 年

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 湯川 博、量子ナノ技術による iPS 細胞再生医療、第 13 回プラズマ医療サイエンスの扉、名古屋、7 月、2016 年 (招待・ワークショップ)
2. 荻原裕佑、湯川 博、小野島大介、亀山達也、林 由美、鳥本 司、石川哲也、馬場嘉信 超低毒性量子ドット ZnS-ZAIS-COOH による移植細胞の蛍光イメージング、*In vivo* イメージングフォーラム 2016、東京、11 月、2016 年
3. 小林香央里、湯川 博、小野島大介、林 由美、石川哲也、田畑泰彦、馬場嘉信、量子・磁気ナノハイブリッド粒子による幹細胞イメージング・ハイパーサーミア効果、*In vivo* イメージングフォーラム 2016、東京、11 月、2016 年

(4) 特許出願

該当なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：再生医療実現拠点ネットワークプログラム 技術開発個別課題
Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine
Projects for Technological Development

研究開発課題名：iPS細胞分化・がん化の量子スイッチング in vivo Theranostics
Quantum-switching in vivo theranostics for induced pluripotent stem (iPS)
cell differentiation and carcinogenesis

研究開発担当者 国立大学法人京都大学ウイルス再生医科学研究所 教授 田畑泰彦

所属 役職 氏名：Professor Yasuhiko Tabata, Institute for Frontier Life and Medical
Sciences, Kyoto University

実施期間：平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立大学法人 名古屋大学・大学院工学研究科 生命分子工学専攻 馬場嘉信 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

(口頭)

1. 村田 勇樹、城 潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子の調製、第62回高分子研究発表会（神戸）、神戸、7月、2016年
2. 村田 勇樹、城 潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子を用いた複合細胞イメージング、日本バイオマテリアル学会第11回関西若手研究発表会、神戸、8月、2016年

(ポスター)

1. 村田 勇樹、城 潤一郎、近藤 蓉子、田畑 泰彦、複合細胞イメージングを目的とした量子ドット・磁性ナノ粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子の作製、日本分子イメージング学会第11回学会総会・学術総会、神戸、5月、2016年
2. 村田 勇樹、城 潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子を用いた複合細胞イメージング、第32回日本DDS学会学術集会、静岡、6、7月、2016年
3. 村田勇樹、城潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット・磁性粒子含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子による細胞イメージング、日本バイオマテリアル学会シンポジウム2016、福岡、11月、2016年
4. 村田 勇樹、城 潤一郎、田畑 泰彦、量子ドット含有ゼラチンハイドロゲルナノ粒子による酵素反応のイメージング、第16回日本再生医療学会総会、仙台、3月、2017年

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし