

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03403

研究課題名(和文) 肝硬変治療の為に多機能性有機-無機ハイブリッドナノ粒子の開発

研究課題名(英文) Organic-Inorganic Hybrid Hollow Nanoparticles Suppress Oxidative Stress and Repair Damaged Tissues for Treatment of Hepatic Fibrosis

研究代表者

林 幸吉郎 (Hayashi, Koichiro)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：80580886

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：現在の肝硬変治療法のオプションは限られており、肝移植がエンドステージの唯一の効果的な治療法であることもある。この問題を解決するために、本研究では、ナノ粒子を用いた新規治療法の開発を試みた。シリビニンを含む多機能性有機-無機ハイブリッド中空ナノ粒子を合成した。このナノ粒子は細胞内グルタチオンに反応し変形した。この変形により、シリビニンがナノ粒子から放出された。さらに、このナノ粒子は活性酸素を除去する能力を有していた。表面修飾により、このナノ粒子は肝星細胞とクッパー細胞をターゲティングした。シリビニン放出能と活性酸素除去能により、肝組織が修復され、肝機能が回復した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝硬変は、慢性肝炎やアルコールの過剰摂取、肥満による脂肪肝などにより肝臓が線維化し、本来の機能を果たせなくなった状態である。現在の肝硬変の治療は、食事療法、運動、肝移植であり、肝臓の線維化を引き起こす原因に対して治療を施す療法はなく、線維化した肝臓を正常状態に戻すことはできない(日本消化器学会)。厚生省の発表では、肝硬変の患者は全国で50万人にのぼり、5年生存率は僅か40%である。このような背景から、早期の治療法が開発が求められている。本研究では、ナノ粒子を静脈内注射により投与することで、マウスの肝組織修復、肝機能回復を達成できており、これは新規治療法となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We synthesized multifunctional organic-inorganic hybrid hollow nanoparticles (HNPs) containing silibinin. The HNPs were mainly composed of siloxanes and disulfides and had surface thiols. The disulfides were cleaved by intracellular glutathione and reduced to thiols, leading to the deformation of the HNPs. Silibinin molecules were released through the cracks formed by HNP deformation. Furthermore, the HNPs suppressed the generation of hydroxyl radicals, a major cause of liver fibrosis, via sulfenylation reactions of HNP thiols. Retinol-modified HNPs targeted Kupffer cells and hepatic stellate cells, which are essential for hepatic fibrogenesis. The combined suppression of hydroxyl radical generation and release of silibinin using the HNPs decreased the proportion of fibrotic tissues and improved hepatic function. The therapeutic efficacy was greater than can be achieved by the suppression of hydroxyl radical generation alone and the injection of silibinin alone.

研究分野：生体材料

キーワード：ナノ粒子 ハイブリッド ナノ医療 多機能性 DDS 刺激応答性 ドラッグデリバリー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

肝硬変は、慢性肝炎やアルコールの過剰摂取、肥満による脂肪肝などにより肝臓が線維化し、本来の機能を果たせなくなった状態である。肝臓の線維化が進むと、肝性脳症や食道静脈瘤などの重篤な症状や合併症が現れる。さらに、食道静脈瘤が破裂すると大量の出血によりショック死を招く。また、線維化により肝がんのリスクも高まる。現在の肝硬変の治療は、食事療法、運動、肝移植であり、肝臓の線維化を引き起こす原因に対して治療を施す療法はなく、線維化した肝臓を正常状態に戻すことはできない(日本消化器学会)。厚生省の発表では、肝硬変の患者は全国で50万人にのぼり、5年生存率は僅か40%である。このような背景から、早期の治療法の開発が求められている。

肝臓の線維化の主な原因は、(1)活性酸素(主にヒドロキシラジカル)と(2)肝臓血管周囲に存在する星細胞の活性化によるコラーゲン線維の過剰な生成である。上記(2)の星細胞(HSCs)の活性化は、肝臓の毛細血管に存在するクッパー細胞が産生するタンパク質である transforming growth factor (TGF)- $\beta$  により誘引されることが知られている。

## 2. 研究の目的

活性酸素除去能および刺激応答性薬剤徐放能を有するナノ粒子を作製する。さらに、このナノ粒子の表面修飾により、肝星細胞およびクッパー細胞をターゲティングすることを可能にする。肝線維症モデルマウスを用いて、上記ナノ粒子の静脈内投与により、肝組織および肝機能を評価する。

## 3. 研究の方法

**材料:** (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane (MPTMS), silibinin (SIL), retinol, 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride, 4-dithiodipyridine, *N*-hydroxysuccinimide を Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Tokyo, Japan) から購入した。3-thiocyanatopropyltriethoxysilane (TPTES) を Gelest (Morrisville, PA, USA) から購入した。Aqueous ammonia (28%) と *N,N'*-dimethylformamide (DMF) を Kishida Chemical Co., Ltd. (Osaka, Japan) から購入した。Glutathione (GSH) と 4% paraformaldehyde (PFA) を Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan) から購入した。

**ナノ粒子合成:** MPTMS (25 mM), TPTES (25 mM), and SIL (350 mM) を DMF に溶解した。アンモニア水 (12.6 mM) をこの DMF 溶液に加え、60 °C で 1 分間攪拌した。生成物を 22,140 × *g* で 20 分間遠心分離して回収し、蒸留水で洗浄した。得られたナノ粒子を SIL-HNPs と表記する。

**表面修飾:** SIL-HNPs (2.8 mg/mL) を DMF に分散した。Retinol (3.9 μM) と *p*-maleimidophenyl isocyanate (39 μM) をこの分散液に加え、室温で 10 分間攪拌した。生成物を 22,140 × *g* で 20 分間遠心分離して回収し、DMF と蒸留水で洗浄した。表面修飾後のナノ粒子を R-SIL-HNPs と表記する。

**構造解析:** ナノ粒子のサイズと形状は TEM (H-800; Hitachi, Tokyo, Japan) 観察により評価した。FT-IR と Raman スペクトルはそれぞれ FT-IR spectrometer (Nexus 470; Nicolet, Madison, WI, USA) と Raman spectrometer (NRS-1000; JASCO, Tokyo, Japan) を用いて測定した。無機相および有機相の割合は DTA-TG (TG 8120; Rigaku, Tokyo, Japan) を用いて評価した。SIL-HNPs 中の SIL 含有量は HPLC (Prominence UFLC; Shimadzu, Kyoto, Japan) and MS (4500Qtrap; AB SCIEX, Tokyo, Japan) により評価した。

**細胞株:** HSCs と Kupffer cells はそれぞれ Sciencell Research Laboratories

(Carlsbad, CA, USA)とRIKEN Cell Bank (Tsukuba, Japan)から購入した。これらの細胞は fetal bovine serum (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 含有 Dulbecco 's modified Eagle 's medium (Sigma, St. Louis, MO, USA)を用いて、5% CO<sub>2</sub>雰囲気、37 °C で培養した。

**細胞取り込み:** HSCs と Kupffer cells ( $2.5 \times 10^4$  cells)は R-HNPs 或いは HNPs containing rhodamine B (75 ng/mL)存在下で、3、12、24 時間、35 mm glass-bottom dishes 中で培養した。これらの細胞は 4% PFA で固定し、核を 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)で染色した。蛍光イメージは confocal laser scanning microscope (LSM 710; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)を用いて撮影した。

**細胞毒性:** HSCs と Kupffer cells は R-HNPs (5、45、90  $\mu$ g/mL)存在下で 24 時間培養した。コントロールとして、R-HNPs 非存在下でこれらの細胞を培養した。細胞毒性は Cell Proliferation Reagent WST-1(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)を用いて評価した。

**Kupffer cells が生成するヒドロキシラジカル除去能評価:** Kupffer cells (5000–6000 cells/well)を 1  $\mu$ g/mL lipopolysaccharide (LPS)存在下で 24 時間培養した。次に、45 または 90  $\mu$ g/mL R-HNPs を培地に加えた。R-HNPs 存在下で Kupffer cells を 24 時間培養した後、培地中のヒドロキシラジカルを aminophenyl fluorescein (APF)を用いて検出した。コントロールとして、LPS なし、HNPs なしグループを作製した。蛍光イメージは confocal microscope を用いて撮影した。蛍光強度は fluorescence microplate reader (FP-8600; JASCO)を用いて評価した。

**実験動物:** 治療効果評価のために C57BL/6NCrSlc マウス (female, 6 weeks of age)を用いた。このマウスは Japan SLC (Shizuoka, Japan)から購入し、名古屋大学 Center for Animal Research and Education (SPF) で飼育した。本動物実験は名古屋大学 Animal Care Committee に承認されている。

**肝線維症モデル作製:** C57BL/6NCrSlc マウスに CCl<sub>4</sub>をミネラルオイルに溶かし (CCl<sub>4</sub>: mineral oil = 1:1 v/v)、週2回 (dose: 1 mL/kg)8週間にわたり腹腔内投与した。HSCs および Kupffer Cells のターゲティング: 肝線維症マウスに FITC 含有 SIL-R-HNPs を樹状脈内投与した。24 時間後、肝組織を摘出し、4% PFA で 48 時間固定した。Kupffer cells と HSCs をそれぞれ Cy5-binding F4/80 antibodies と tetramethylrhodamine (TRITC)-binding anti-desmin antibodies で染色した。核は DAPI で染色した。蛍光イメージは confocal microscope を用いて撮影した。

**治療効果評価:** SIL-R-HNPs、SIL-HNPs、SILを肝線維症マウスに1回もしくは2回静脈内投与した。2回目の投与は1回目の投与から1週間後に行った。投与してから2週間後、肝臓と血清を回収した。肝組織を4% PFAで48時間固定し、組織標本を作製した。肝組織は hematoxylin-eosin (HE) および Sirius Red-Fast Green で染色した。線維組織の割合は ImageJ (NIH, Bethesda, MD, USA)を用いて評価した。Automated biochemical analyzer (Hitachi 7180)を用いて、血清中の aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、alkaline phosphatase (ALP)を評価した。

#### 4. 研究成果

**4.1. HNPs の合成と評価:** SIL-HNPs の TEM 像から HNPs は中空構造であることが確認された。粒径は  $144 \pm 13$  nm であり、シェル厚は  $35 \pm 2$  nm であった。

HNPs のラマンスペクトルにおいて、MPTMS および TPTES にみられたチオールおよびチオシアネート由来のピーク（それぞれ  $2565\text{ cm}^{-1}$  と  $2147\text{ cm}^{-1}$ ）が消滅し、ジスルフィド由来のピークが  $510\text{ cm}^{-1}$  に現れた。FTIR スペクトルにおいて、MPTMS と TPTES のアルコキシ基由来の吸収（それぞれ  $812\text{ cm}^{-1}$  と  $793\text{ cm}^{-1}$ ）が減少し、シロキサン由来の吸収が  $1033\text{ cm}^{-1}$  に出現した。これらの結果から、HNPs はジスルフィドとシロキサンからなる有機 - 無機ハイブリッド中空ナノ粒子であることが明らかになった。

UV-vis スペクトルにおいて、HNPs には吸収が見られなかったが、SIL-HNPs には  $260\text{--}270$  と  $280\text{--}300\text{ nm}$  に吸収が見られた。これらの吸収は SIL 単独でも見られたことから、HNPs が SIL を含有していることが示唆された。

HPLC-MS により、SIL-HNPs は  $100\text{ mmol/g}$  の SIL を含有しており、封入効率は  $100\%$  であることが明らかになった。

TG 曲線より、SIL は  $250\text{--}480$  で分解することが明らかになった。SIL-HNPs は SIL 単独と同じ温度で分解した。SIL-HNPs の重量減少は HNPs よりも大きかった。この結果からも、SIL-HNPs が SIL を含有していることを示している。また、HNPs は  $38\%$  が無機成分（シリカ）であることが明らかになった。

**4.2. 表面修飾：**HSCs ターゲティングを可能にするため、SIL-HNPs 表面のチオール基を活用し、レチノールを修飾した。Ellman アッセイにより、表面修飾前は、 $6.6\text{ mol/g}$  チオールが SIL-HNPs 表面に存在していることが明らかになった。この結果に基づき、SIL-HNPs 溶液に *p*-maleimidophenyl isocyanate と retinol をチオールの半分量（モル）加えた。表面修飾後の Ellman アッセイにより、 $3.1\text{ mol/g}$  チオール基が残存していることが明らかになった。これらの結果から、SIL-R-HNPs 表面に  $3.5\text{ mol/g}$  retinol が存在していることが明らかになった。

**4.3. GSH-応答性 SIL 放出：**SIL-R-HNPs を GSH 含有水に  $80$  分間および  $24$  時間浸漬した。TEM 画像から、GSH 含有水に  $80$  分浸した後、HNP 骨格は変形することが明らかになった。 $24$  時間浸漬後、HNPs の分解により生じた破片が観察された。これらに結果から、HNPs は GSH に応答して、徐々に分解することが明らかになった。

無刺激では HNPs から SIL は放出されないことが明らかになった。 $80$  分間の GSH 刺激により、 $63\%$  の SIL が放出された。以上より、GSH に応答して HNPs 構造が崩壊し、微小孔が形成されることにより、SIL が放出されることが示された。

**4.4. ヒドロキシラジカル除去：**Fenton 反応により生じたヒドロキシラジカルを HNPs を用いて除去することが可能か検討した。ヒドロキシラジカルは APF で検出した。HNPs が存在しない場合は、 $0.9\text{ mM}$  のヒドロキシラジカルが検出されたが、HNPs が存在した場合は、 $0.09\text{ mM}$  のヒドロキシラジカルが検出された。これらの結果から、HNPs は  $1.2\text{ mol/g}$  のヒドロキシラジカル除去能を有することが明らかになった。

ヒドロキシラジカル除去メカニズムをラマンスペクトルにより評価した。ヒドロキシラジカル除去後、SOH 由来のピークが  $715\text{ cm}^{-1}$  に出現した。この結果から、HNPs が sulfenylation 反応によりヒドロキシラジカルを除去することが明らかになった。

**4.5. In Vitro 実験：**HNPs が HSCs および Kupffer cells に取り込まれることを確認するために、R-HNPs に rhodamine B を封入した。この HSCs 存在下で HSCs および Kupffer cells を培養し、蛍光顕微鏡で観察した。R-HNPs は HSCs に取り込まれたが、未修飾 HNPs は取り込まれなかった。R-HNPs の  $85\%$  が HSCs に取り込まれた。未修飾 HNPs および R-HNPs の  $95\%$  が Kupffer cells に取り込まれた。これらの結果から、R-HNPs が HSCs と

Kupffer cells の両方に取り込まれることが明らかになった。

R-HNPs の Kupffer cells および HSCs に対する細胞毒性を water-soluble tetrazolium salt (WST)-1 assay に評価したところ、90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で、どちらの細胞に対しても毒性を示さなかった。

R-HNPs が Kupffer cells によって生成されたヒドロキシラジカルを除去することができるか検証した。ヒドロキシラジカルは APF で検出した。Kupffer cells を LPS で刺激しない場合はヒドロキシラジカルは検出されなかったが、Kupffer cells を LPS で刺激するとヒドロキシラジカルが生成されることを確認した。また、R-HNPs を培地中に加えることで、ヒドロキシラジカルが減少することを確認した。R-HNPs を 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  加えた場合、完全にヒドロキシラジカルが除去された。これらの結果から、R-HNPs が Kupffer cells によって生成されたヒドロキシラジカルを除去することを明らかになった。

**4.6. In Vivo 実験：**肝線維症マウスに SIL、R-HNPs、SIL-R-HNPs を単回もしくは二回静脈内投与を行った。治療効果は、免疫染色および生化学検査により行った。

まず、SIL-R-HNPs の Kupffer cells および HSCs に対するターゲティング能を蛍光免疫染色より評価した。ターゲティング能を評価するために SIL-R-HNPs に FITC を封入した。比較のために、未修飾の SIL-HNPs も投与した。Kupffer cells と HSCs はそれぞれ Cy5-conjugated F4/80 antibodies と TRITC-conjugated anti-desmin antibodies で染色した。SIL-R-HNPs は Kupffer cells と HSCs に局在していることが明らかになった。一方、未修飾 HNPs は Kupffer cells をターゲティングすることはできたが、HSCs をターゲティングすることができなかった。これらの結果から、SIL-R-HNPs は生体内において Kupffer cells と HSCs をともにターゲティングできることが明らかになった。さらに、retinol 修飾は HSCs のターゲティングに有効であったが、Kupffer cells のターゲティングには必ずしも必要でないことも明らかになった。

肝臓内の線維組織およびコラーゲンファイバーの割合を病理組織学的に解析した。線維組織は Sirius Red で赤色に、nonfibrous tissues は Fast Green で緑色に染色した。正常な肝組織では、血管周囲のコラーゲンファイバーのみが染色された。全組織に対するコラーゲンファイバーの割合は 0.9% であった。一方、肝線維症マウスにおいては、線維組織が肝臓全体に観察され、その割合は 13% であった。R-HNPs の単回投与 (R-HNPs-1) と二回投与 (R-HNPs-2) により、線維組織の割合はそれぞれ 4.4%、2.7% に減少した。SIL の単回投与 (SIL-1)、二回投与 (SIL-2) では、線維組織の割合はそれぞれ 6.5%、2.8% に減少した。これらの結果は、SIL と R-HNPs の投与により、ダメージを受けた肝組織が改善することを示している。さらに、SIL-R-HNPs の単回投与 (SIL-R-HNPs-1)、二回投与 (SIL-R-HNPs-2) は線維組織をそれぞれ 2.8%、1.8% に減少させた。これは、SIL-R-HNPs が SIL または R-HNPs 単独よりも肝組織を修復する能力が高いことを示している。

生化学検査により、血清中の AST、ALT、ALP を評価した。SIL、R-HNPs、SIL-R-HNPs の投与により、AST、ALT、ALP 値は正常値に近づいた。特に、SIL-R-HNPs の二回投与の効果は大きく、AST、ALT、ALP 値はほぼ正常値を示した。

以上の結果から、SIL-R-HNPs のターゲティング能、ヒドロキシラジカル除去能、薬剤徐放能により、SIL-R-HNPs を一週間毎に二回投与することで、肝組織が修復され、肝機能が正常状態に回復することが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計31件（うち査読付論文 31件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Melvin L. Munar, Kunio Ishikawa	4. 巻 111
2. 論文標題 Effects of macropore size in carbonate apatite honeycomb scaffolds on bone regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials Science and Engineering: C	6. 最初と最後の頁 110848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110848">https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110848</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koichiro Hayashi, Ryo Kishida, Akira Tsuchiya, Kunio Ishikawa	4. 巻 3
2. 論文標題 Granular Honeycombs Composed of Carbonate Apatite, Hydroxyapatite, and $\beta$ -Tricalcium Phosphate as Bone Graft Substitutes: Effects of Composition on Bone Formation and Maturation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 1787-1795
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00060">https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00060</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tansza Setiana Putri, Koichiro Hayashi, Kunio Ishikawa	4. 巻 In Press
2. 論文標題 Fabrication of three-dimensional interconnected porous blocks composed of robust carbonate apatite frameworks	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ceramics International	6. 最初と最後の頁 In Press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.05.076">https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.05.076</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tansza Setiana Putri, Koichiro Hayashi, Kunio Ishikawa	4. 巻 108
2. 論文標題 Bone regeneration using $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) block with interconnected pores made by setting reaction of $\beta$ -TCP granules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part A	6. 最初と最後の頁 625-632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1002/jbm.a.36842">https://doi.org/10.1002/jbm.a.36842</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rui Shi, Koichiro Hayashi, LT Bang, Kunio Ishikawa	4. 巻 34
2. 論文標題 Effects of surface roughening and calcite coating of titanium on cell growth and differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biomaterials Applications	6. 最初と最後の頁 917-927
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1177/0885328219883765">https://doi.org/10.1177/0885328219883765</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Thet Thet Swe, Khairul Anuar Shariff, Hasmaliza Mohamad, Kunio Ishikawa, Koichiro Hayashi, Mohamad Hafizi Abu Bakar	4. 巻 46
2. 論文標題 Behavioural response of cells and bacteria on single and multiple doped Sr and Ag S53P4 Sol-Gel Bioglass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ceramics International	6. 最初と最後の頁 17881-17890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.04.094">https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.04.094</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Ryo Kishida, Akira Tsuchiya, Kunio Ishikawa	4. 巻 3
2. 論文標題 Carbonate Apatite Micro-Honeycombed Blocks Generate Bone Marrow-Like Tissues as well as Bone	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Advanced Biosystems	6. 最初と最後の頁 1900140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1002/adbi.201900140">https://doi.org/10.1002/adbi.201900140</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Ryo Kishida, Akira Tsuchiya, Kunio Ishikawa	4. 巻 4
2. 論文標題 Honeycomb blocks composed of carbonate apatite, -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite for bone regeneration: effects of composition on biological responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Materials Today Bio	6. 最初と最後の頁 100031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtbio.2019.100031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Melvin L. Munar, Kunio Ishikawa	4. 巻 45
2. 論文標題 Carbonate apatite granules with uniformly sized pores that arrange regularly and penetrate straight through granules in one direction for bone regeneration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ceramics International	6. 最初と最後の頁 15429-15434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.05.042">https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.05.042</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yuta Sakemi, Koichiro Hayashi, Akira Tsuchiya, Yasuharu Nakashima, Kunio Ishikawa	4. 巻 12
2. 論文標題 Fabrication and Histological Evaluation of Porous Carbonate Apatite Block from Gypsum Block Containing Spherical Phenol Resin as a Progen	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 3997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma12233997	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shunki Kobayashi, Koichiro Hayashi, Wataru Sakamoto	4. 巻 58
2. 論文標題 Effects of Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> addition on the microstructural and electrical properties of lead-free piezoelectric (Ba,Ca)(Ti,Zr)O <sub>3</sub> ceramics sintered in air or a reducing atmosphere	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SLLC04
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.7567/JJAP.57.021501">https://doi.org/10.7567/JJAP.57.021501</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunio Ishikawa, Tya Indah Arifita, Koichiro Hayashi, Kanji Tsuru	4. 巻 107
2. 論文標題 Fabrication and evaluation of interconnected porous carbonate apatite from alpha tricalcium phosphate spheres	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 269-277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunio Ishikawa, Youji Miyamoto, Akira Tsuchiya, Koichiro Hayashi, Kanji Tsuru, Go Ohe	4. 巻 11
2. 論文標題 Physical and Histological Comparison of Hydroxyapatite, Carbonate Apatite, and -Tricalcium Phosphate Bone Substitutes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 1993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma11101993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Naoya Ozawa, Koichiro Hayashi, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 563
2. 論文標題 Synthesis of titania nanoparticle-dispersed hybrid membranes from allyloxytitanium and phosphonic acid derivatives for fuel cell	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE	6. 最初と最後の頁 221-228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.memsci.2018.05.072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Atsuto Tokuda, Wataru Sakamoto	4. 巻 19
2. 論文標題 Hydroxyl Radical-Suppressing Mechanism and Efficiency of Melanin-Mimetic Nanoparticles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES	6. 最初と最後の頁 2309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19082309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Shota Yamada, Wataru Sakamoto, Eri Usugi, Masatoshi Watanabe, Toshinobu Yogo	4. 巻 4
2. 論文標題 Red Blood Cell-Shaped Microparticles with a Red Blood Cell Membrane Demonstrate Prolonged Circulation Time in Blood	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS BIOMATERIALS SCIENCE & ENGINEERING	6. 最初と最後の頁 2729-2732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbmaterials.8b00197	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Hikaru Hayashi, Shota Yamada, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 193
2. 論文標題 Cellulose-based molecularly imprinted red-blood-cell-like microparticles for the selective capture of cortisol	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 CARBOHYDRATE POLYMERS	6. 最初と最後の頁 173-178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.carbpol.2018.03.095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Takuma Maruhashi, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 28
2. 論文標題 Organic-Inorganic Hybrid Hollow Nanoparticles Suppress Oxidative Stress and Repair Damaged Tissues for Treatment of Hepatic Fibrosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advanced Functional Materials	6. 最初と最後の頁 1706332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adfm.201706332	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Shota Yamada, Hikaru Hayashi, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 156
2. 論文標題 Red Blood Cell-like Particles with the Ability to Avoid Lung and Spleen Accumulation for the Treatment of Liver Fibrosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 45-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2017.11.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Hikaru Hayashi, Shota Yamada, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 193
2. 論文標題 Cellulose-Based Molecularly Imprinted Red-Blood-Cell-Like Microparticles for the Selective Capture of Cortisol	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Carbohydrate Polymers	6. 最初と最後の頁 173-178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.carbpol.2018.03.095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kouta Noritake, Wataru Sakamoto, Isamu Yuitoo, Teruaki Takeuchi, Koichiro Hayashi, Toshinobu Yogo	4. 巻 57
2. 論文標題 Fabrication of Lead-Free Piezoelectric Li2CO3-Added (Ba,Ca)(Ti,Sn)O3 Ceramics under Controlled Low Oxygen Partial Pressure and Their Properties	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 21501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7567/JJAP.57.021501	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Miki, S. Nakamura, A. Oda, H. Tenshin, J. Teramachi, M. Hiasa, A. Bat-Erdene, Y. Maeda, M. Oura, M. Takahashi, M. Iwasa, T. Harada, S. Fujii, K. Kurahashi, S. Yoshida, K. Kagawa, I. Endo, K. Aihara, M. Ikuo, K. Itoh, K. Hayashi, M. Nakamura, M. Abe	4. 巻 9
2. 論文標題 Effective impairment of myeloma cells and their progenitors by hyperthermia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 10307-10316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.23121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunio Ishikawa, Tya Arifta, Koichiro Hayashi, Kanji Tsuru	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Fabrication and Evaluation of Interconnected Porous Carbonate Apatite from Alpha Tricalcium Phosphate Spheres	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Michihiro Nakamura, Koichiro Hayashi, Hitoshi Kubo, Takafumi Kanadani, Masafumi Harada, Toshinobu Yogo	4. 巻 492
2. 論文標題 Relaxometric Property of Organosilica Nanoparticles Internally Functionalized with Iron Oxide and Fluorescent Dye for Multimodal Imaging	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Colloid and Interface Science	6. 最初と最後の頁 127-135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcis.2017.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masaya Takemoto, Koichiro Hayashi, Shin-ichi Yamaura, Wei Zhang, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 120
2. 論文標題 Synthesis of Inorganic-organic Hybrid Membranes Consisting of Organotrisiloxane Linkages and Their Fuel Cell Properties at Intermediate Temperatures	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Polymer	6. 最初と最後の頁 21501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.polymer.2017.05.065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Michihiro Nakamura, Koichiro Hayashi, Hitoshi Kubo, Masafumi Harada, Keisuke Izumi, Yoshihiro Tsuruo, Toshinobu Yogo	4. 巻 206
2. 論文標題 Mesoscopic Multimodal Imaging Provides New Insight to Tumor Tissue Evaluation: An Example of Macrophage Imaging of Hepatic Tumor using Organosilica Nanoparticles	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 87-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-04043-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masaya Takemoto, Masatomo Hattori, Koichiro Hayashi, Shin-ichi Yamaura, Wei Zhang, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo	4. 巻 206
2. 論文標題 Metallic Glass Separators for Fuel Cells at Intermediate Temperatures	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Materials Letters	6. 最初と最後の頁 87-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.matlet.2017.06.115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koichiro Hayashi, Yusuke Sato, Hiroki Maruoka, Wataru Sakamoto, and Toshinobu Yogo	4. 巻 3
2. 論文標題 Organic-Inorganic Hybrid Nanoparticles for Tracking the Same Cells Seamlessly at the Cellular, Tissue, and Whole Body Levels	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Biomaterials Science & Engineering	6. 最初と最後の頁 1129-1135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbmaterials.7b00181	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 林幸彦朗	4. 巻 2
2. 論文標題 骨髄様組織を形成するハニカムスキャフォールド	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIO INDUSTRY	6. 最初と最後の頁 24-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 林幸彦朗	4. 巻 -
2. 論文標題 磁場を使った医療技術	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 現代化学	6. 最初と最後の頁 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 林幸彦朗	4. 巻 -
2. 論文標題 診断・治療用有機・無機ハイブリッドナノ粒子の開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 セラミックデータブック2017/2018	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Koichiro Hayashi, Takuma Maruhashi, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo
2. 発表標題 Multifunctional Organic-Inorganic Hybrid Hollow Nanoparticles for Treatment of Hepatic Fibrosis
3. 学会等名 6th International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林幸彦朗
2. 発表標題 多機能性微粒子の合成と医療応用
3. 学会等名 第8回日本バイオマテリアル学会九州ブロック講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林 幸彦朗, 丸橋卓磨, 坂本 渉, 余語利信
2. 発表標題 有機-無機ハイブリッド中空ナノ粒子の合成と肝硬変治療への応用
3. 学会等名 2018年度セラミックス協会東海支部学術研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林 幸彦朗, 丸橋卓磨, 坂本 渉, 余語利信
2. 発表標題 有機-無機ハイブリッド中空ナノ粒子のone-pot合成と肝繊維症治療への応用
3. 学会等名 第40回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koichiro Hayashi
2. 発表標題 One-Pot Synthesis of Dual Stimulus-Responsive Degradable Organic-Inorganic Hybrid Hollow Nanoparticles for Fluorescence Image-Guided Trimodal Therapy
3. 学会等名 BIT's 7th Annual World Congress of Nano Science & Technology 2017（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koichiro Hayashi
2. 発表標題 One-Pot Synthesis of Organic-Inorganic Hybrid Hollow Nanoparticles for Fluorescence Image-Guided Trimodal Therapy
3. 学会等名 2nd International Symposium on Creation of Life Innovation Materials for Interdisciplinary and International Researcher Development (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林幸彦朗
2. 発表標題 多機能性ナノ・マイクロ粒子の作製と生物医学応用
3. 学会等名 日本ソル・ゲル学会第15回討論会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林幸彦朗
2. 発表標題 多機能ナノ/マイクロ粒子の合成と診断・治療への応用
3. 学会等名 第7回ナノカーボンバイオシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林幸彦朗, 丸橋卓磨, 坂本渉, 余語利信
2. 発表標題 ハイブリッド中空ナノ粒子を用いた肝線維化治療
3. 学会等名 第39回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----