

神戸学院大学ライフサイエンス産学連携研究センター

# 2016年度研究成果発表会 プログラム

平成29年3月2日（木）・3日（金）  
於：C号館LSCカンファレンスルーム  
およびピロティ

主 催

神戸学院大学ライフサイエンス産学連研究センター

共 催

文部科学省・私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
「創剤・創薬・創材支援を企図した医用ナノパーティキュレートシステム  
基盤研究拠点の形成」

ひょうご神戸サイエンスクラスター協議会

神戸学院大学大学院 FD 部会

協 賛

神戸学院大学薬学部 製剤学研究室

## プログラム

<b>1 日目</b>	<b>3 月 2 日 (木)</b>	<b>受付 9 : 30 ~</b>	
10:00~10:05	開会の挨拶		センター長 福森義信
10:05~10:15	文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 『創剤・創薬・創材支援を企図した医用ナノパーティキュレート システム基盤研究拠点の形成』-5年間を振り返って*		研究代表者 市川秀喜
	口頭発表		(座長：藤井文彦)
10:15~10:35 O-1	ナノパーティクルの血管への作用* The nanoparticle induces the vasoconstriction and vasorelaxation ○屋山勝俊, 宮川葉月, 松尾愛子, 小野寺 章, 河合裕一 神戸学院大学 薬学部 循環器薬理学研究室		
10:35~10:55 O-2	動物細胞と微生物に対する微粒子の付着・取込* Adhesion/uptake of particles onto/into mammalian and microbial cells 塚本七海 <sup>1</sup> , 瀧口未歩 <sup>2</sup> , 竹本 聡 <sup>2</sup> , 柳場俊亮 <sup>2</sup> , 廣橋由美子 <sup>2</sup> , 瀬戸弘一 <sup>2</sup> , ○新戸浩幸 <sup>2</sup> <sup>1</sup> 福岡大学大学院 工学研究科 化学システム工学専攻 <sup>2</sup> 福岡大学工学部 化学システム工学科		
10:55~11:15 O-3	ナノ粒子製造/ナノ構造制御技術の基盤整備と DDS への展開研究* Nanoparticle fabrication and nano-structure control technologies and their application to drug delivery systems ○市川秀喜, 安藤 徹, 福森義信 神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室		
11:15~11:25	休 憩		(座長：安藤 徹)
11:25~11:45 O-4	グリーン・サステイナブルケミストリーを志向するペプチド合成：ナ ノ粒子型反応分子を用いるマイクロ波水中合成の開発* Green sustainable chemistry-oriented peptide synthesis: development of aqueous microwave synthesis method using nanoparticulate building blocks ○北條恵子 <sup>1,2</sup> , 日高興士 <sup>1,2</sup> , 福森義信 <sup>2,3</sup> , 市川秀喜 <sup>2,3</sup> , 津田裕子 <sup>1,2</sup> <sup>1</sup> 神戸学院大学 薬学部 薬品化学研究室 <sup>2</sup> 神戸学院大学薬学部 LSC <sup>3</sup> 神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室		
11:45~12:05 O-5	両親媒性リポペプチドによる抗腫瘍活性の増強とリポソーム膜修飾* Enhancement of anti-tumor activity of amphiphilic lipopeptides and their modification on liposome membrane		

○宮崎杏奈<sup>1,2</sup>, 北野佑季<sup>1</sup>, 日高興士<sup>1,2</sup>, 水品善之<sup>2</sup>, 津田裕子<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 薬品化学研究室 <sup>2</sup>神戸学院大学 LSC

12:05~12:25  
O-6 表面加工ナノ粒子をベースとしたドラッグデリバリーシステムツールの効率的な生産システムの開発\*

Development of an efficient production system of novel drug-delivery system tool based on the surface-modified nano-particles

○田端厚之, 長宗秀明  
徳島大学大学院 生物資源産業学研究所

12:25~13:40 昼休憩

13:40~14:50 ポスター発表

P-1 シリカ粒子による炎症性サイトカイン活性化と細胞障害\*  
Silica induces the activation of inflammatory cytokine and cell death in macrophages

○榎本理世, 李 英培  
神戸学院大学 薬学部 薬理学研究室

P-2 ガラス製アンプルカットにより発生したナノサイズの不溶性微粒子のリスク評価 - イメージング素子含有ガラスナノ粒子の調製 -\*  
The risk assessment of insoluble nano-sized particles generated by glass ampoule opening: Preparation of imaging elements loaded glass-nanoparticles

○磯野絵梨香<sup>1</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 日置和人<sup>2</sup>, 福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 機能分子化学研究室

P-3 ペプチド性薬物の経口送達用 Core-Shell 型ナノゲル粒子の調製と評価: 薬物封入粒子の再分散性向上を目指した凍結乾燥条件の検討\*

Core-shell nanogel particles (CSNPs) for oral delivery of peptide-based drugs: Investigation of freeze-drying condition for improving redispersibility of drug-loaded CSNPs

○澤 彰洋, 安藤 徹, 福森義信, 市川秀喜  
神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

P-4 難水溶性薬物の溶出改善を目的としたナノ結晶被覆粒子の調製とその錠剤化\*

Preparation of nanocrystals-coated particles for improving dissolution of poorly water-soluble drug and their tableting

○福山 愛<sup>1</sup>, 福島滉祐<sup>1</sup>, 兒玉智史<sup>2</sup>, 杉澤賢司<sup>2</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室, <sup>2</sup>日本曹達株式会社

- P-5      ホウ素中性子捕捉療法用ナノサスペンション型 L-BPA 製剤の調製: 微細化と投与方法による体内動態への影響\*
- Preparation of nanoparticulate L-BPA formulation for boron neutron capture therapy: Effect of administration routes and size reduction on biodistribution
- 門田直紀<sup>1</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 藤本卓也<sup>2</sup>, 福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>
- <sup>1</sup> 神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室
- <sup>2</sup> 兵庫県立がんセンター 整形外科
- 
- P-6      乾式微粒子コーティングにおける複合化コーティング剤ナノ粒子が被覆特性に及ぼす影響\*
- Effect of nano-composite coating agents on coating performances in dry particulate coating
- 安永峻也<sup>1</sup>, 中村一清<sup>2</sup>, 安藤 徹<sup>2</sup>, 福森義信<sup>2</sup>, 市川秀喜<sup>1,2</sup>
- <sup>1</sup> 神戸学院大学大学院 薬学研究科
- <sup>2</sup> 神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室
- 
- P-7      *Stenotrophomonas maltophilia* 菌由来ジペプチジルペプチダーゼ 7 に対する阻害剤の設計と評価 –宇宙ステーションで抗菌薬を開発する\*
- Design and evaluation of inhibitors against dipeptidylpeptidase 7 derived from *Stenotrophomonas maltophilia* – Developing antimicrobial agents in space station –
- 櫻井有紀<sup>1</sup>, ○日高興士<sup>1,2</sup>, 宮崎杏奈<sup>1,2</sup>, 北條恵子<sup>1,2</sup>, 六本木沙織<sup>3</sup>, 阪本泰光<sup>3</sup>, 伊藤康広<sup>4</sup>, 鈴木義之<sup>4</sup>, 小笠原 涉<sup>4</sup>, 田中信忠<sup>5</sup>, 津田裕子<sup>1,2</sup>
- <sup>1</sup> 神戸学院大学 薬学部 薬品化学研究室, <sup>2</sup> 神戸学院大学 薬学部 LSC
- <sup>3</sup> 岩手医科大学 薬学部, <sup>4</sup> 長岡技術科学大学 工学部, <sup>5</sup> 昭和大学 薬学部
- 
- P-8      拡張した P2 分子もしくは新規 P1' 分子を有するプラスミン阻害剤の設計\*
- Design of plasmin inhibitors with extended P2 moieties or novel P1' moieties
- 岩佐直通<sup>1</sup>, 梶田昂志<sup>1</sup>, 久野元嗣<sup>1</sup>, 日高興士<sup>1,2</sup>, 北條恵子<sup>1,2</sup>, 合田圭吾<sup>3</sup>, 手納直規<sup>4</sup>, 和中敬子<sup>5</sup>, ○津田裕子<sup>1,2</sup>
- <sup>1</sup> 神戸学院大学 薬学部, <sup>2</sup> 神戸学院大学 LSC, <sup>3</sup> 関西分子設計研究室, <sup>4</sup> 広島国際大学 医療栄養学部, <sup>5</sup> 血栓止血研究プロジェクト
- 
- P-9      ナノ粒子界面での結合反応を利用した接触-接合技術の開発\*
- Development of the Contact-Adhesion Technology Based on the Amide Bond Formation on a Nanoparticle Surface
- 日置和人<sup>1</sup>, 藤井文彦<sup>2</sup>
- <sup>1</sup> 神戸学院大学 薬学部 機能分子化学研究室
- <sup>2</sup> 神戸学院大学 薬学部 生体光計測研究室

14:50~15:00

休 憩

- 15:00～16:00 特別講演 I (座長：屋山勝俊)
- ナノ粒子表面特性と細胞進入量との関係性
- 京都大学 環境安全保健機構 安全科学センター  
松井 康人 先生
- 16:00～16:10 休 憩
- 16:10～17:10 特別講演 II (座長：市川秀喜)
- チタン酸化物と放射線の併用によるがん治療戦略提案
- 神戸大学 大学院工学研究科 応用化学専攻  
荻野 千秋 先生
- 17:20～ 意見交換会 A号館 1F クルーズカフェ
- \* 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業・採択課題

**2 日目 3 月 3 日 (金) 受付 12 : 30～**

- 口頭発表 (座長：津田裕子)
- 13:00～13:15 2016 年度研究活動の総括 —基礎研究からの発信を臨床に還元するには?—  
O-7
- Review of the research activities 2016  
— From basic research to clinical application —  
○徳山尚吾  
神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室
- 13:15～13:40 ポスター発表者によるピックアップフラッシュプレゼンテーション  
(口頭発表 3 分間/演題)
- P-6, P-7, P-8, P-9, P-10, P-11, P-13, P-22
- 13:40～14:25 ポスター発表
- P-10 リポポリサッカライドにより惹起される脂肪細胞炎症における GPR120/FFAR4 シグナルの関与  
The involvement of GPR120/FFAR4 signal in LPS-induced adipocyte inflammation  
○中本賀寿夫<sup>1</sup>, 島田幸季<sup>1</sup>, 原田慎一<sup>1</sup>, 森本泰子<sup>2</sup>, 平澤 明<sup>3</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>

- <sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 健康支援研究室  
<sup>3</sup>京都大学大学院 薬学研究科 薬理ゲノミクス分野

- P-11 脳虚血性神経障害発現に対する視床下部 Foxa2 の関与  
Involvement of Foxa2 on the development of cerebral ischemia-induced neuronal damage  
○原田慎一, 上野彩歌, 徳山尚吾  
神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室
- P-12 ホスピス緩和ケア業務に従事する薬剤師のターミナルケア態度に対する意識調査  
The survey of attitudes towards terminal care in pharmacist of hospice  
○小畑友紀雄<sup>1</sup>, 森本泰子<sup>2</sup>, 齋藤俊子<sup>3</sup>, 尹美帆<sup>4</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 衛生化学-健康支援研究室  
<sup>3</sup>洛和会音羽病院 薬剤部, <sup>4</sup>京都鞍馬口医療センター 薬剤科
- P-13 脳虚血ストレス負荷後の脳内 sodium-glucose transporter type 1 の発現誘導に対する mitogen-activated protein kinases の関与  
Involvement of mitogen-activated protein kinases in cerebral ischemic stress-induced up-regulation of cerebral sodium-glucose transporter type 1  
○山崎由衣, 吉川絢華, 原田慎一, 徳山尚吾  
神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室
- P-14 脳虚血後の肝臓におけるインスリンシグナル系の変化に対する視床下部 orexin-A の影響  
Effect of orexin-A on the changes in cerebral ischemia-induced hepatic insulin signaling  
○野崎裕大, 原田慎一, 徳山尚吾  
神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室
- P-15 脳卒中後疼痛に対する high mobility group box-1/toll-like receptor 4 シグナル系の関与  
Involvement of high mobility group box-1/toll-like receptor 4 signaling on the central post-stroke pain  
○松浦 渉<sup>1</sup>, 原田慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀正洋<sup>2</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>岡山大学大学院 医歯薬同号研究科 薬理学
- P-16 脳卒中後疼痛モデルにおける脊髄および坐骨神経に対するプロテオーム解析  
Proteomic profiling on the spinal cord and sciatic nerve in central post-stroke pain model mice

○景山絵理香<sup>1</sup>, 松浦 涉<sup>1</sup>, 原田慎一<sup>1</sup>, 鷹野正興<sup>2</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 分子細胞生物学研究室

- P-17 全脳虚血誘導性機械的アロディニアに対する orexin-A の影響  
**Influence of orexin-A on global cerebral ischemia-induced mechanical allodynia**  
○増田風香, 松浦 涉, 原田慎一, 徳山尚吾  
神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室
- P-18 幼少期ストレス負荷による神経障害性疼痛増悪後のドーパミンシグナルの関与  
**The involvement of dopamine signal in the exacerbation of neuropathic pain induced by early life stress**  
○藤本貴士<sup>1</sup>, 山下琢矢<sup>2</sup>, 中本賀寿夫<sup>1</sup>, 下條正仁<sup>3</sup>, 糟谷史代<sup>2</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 毒性学研究室  
<sup>3</sup>大阪大学大学院 薬学研究科 生物有機化学分野
- P-19 慢性疼痛の形成時における脳内長鎖脂肪酸 GPR40/FFAR1 の役割  
**The role of free fatty acid receptor GPR40/FFAR1 in the development of chronic pain**  
○丸尾恵里佳<sup>1</sup>, 相澤風花<sup>1</sup>, 大垣圭弘<sup>1</sup>, 山下琢矢<sup>2</sup>, 中本賀寿夫<sup>1</sup>, 平澤 明<sup>2</sup>, 栗原 崇<sup>3</sup>, 糟谷史代<sup>2</sup>, 宮田篤郎<sup>3</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 毒性学研究室  
<sup>3</sup>京都大学大学院 薬学研究科 薬理ゲノミクス分野  
<sup>4</sup>鹿児島大学 医歯学総合研究科 生体情報薬理学
- P-20 長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 の欠損は、脳内ノルアドレナリンの増加を引き起こし、異常行動を示す  
**GPR40/FFAR1 deficient mice increase noradrenaline levels in the brain and exhibit abnormal behavior**  
○今西朝美<sup>1</sup>, 相澤風花<sup>1</sup>, 大垣圭弘<sup>1</sup>, 山下琢矢<sup>2</sup>, 中本賀寿夫<sup>1</sup>, 平澤 明<sup>2</sup>, 栗原 崇<sup>3</sup>, 宮田篤郎<sup>3</sup>, 糟谷史代<sup>2</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室  
<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 毒性学研究室  
<sup>3</sup>京都大学大学院 薬学研究科 薬理ゲノミクス分野  
<sup>4</sup>鹿児島大学 医歯学総合研究科 生体情報薬理学
- P-21 明細胞肉腫 (CCS) に対するホウ素中性子捕捉療法 : CCS における LAT1 発現とその L-BPA 取込への関与  
**Boron neutron capture therapy for clear cell sarcoma (CCS): Expression of**

**LAT1 in CCS cell lines and its involvement with L-BPA uptake**

○和田恵二郎<sup>1</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 藤本卓也<sup>2</sup>, 須藤 保<sup>3</sup>, 盛武 浩<sup>4</sup>,  
福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

<sup>2</sup>兵庫県立がんセンター 整形外科

<sup>3</sup>兵庫県立がんセンター 研究部

<sup>4</sup>宮崎大学 医学部 小児科

P-22 ヒト由来乳癌細胞株を用いた骨転移に対するホウ素中性子捕捉療法の前臨床研究

**Preclinical study on boron neutron capture therapy for bone metastasis with human breast cancer cell lines**

○安藤 徹<sup>1</sup>, 佐谷諒一<sup>1</sup>, 中野将司<sup>1</sup>, 藤本卓也<sup>2</sup>, 須藤 保<sup>3</sup>,  
福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

<sup>2</sup>兵庫県立がんセンター 整形外科

<sup>3</sup>兵庫県立がんセンター 研究部

14:25~14:35 休 憩

14:35~15:35 依頼講演 (座長: 袁 德其)

**Synthetic Transmembrane Anion Transporters**

中国南方医科大学 薬学院

Wen-Hua Chen 先生

15:35~15:40 休 憩

15:40~16:40 特別講演Ⅲ (座長: 徳山尚吾)

脊髄グリア細胞から探る痛みの慢性化メカニズム

九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野

津田 誠 先生

16:40~16:45 閉会の挨拶 LSC 運営委員長 李 英培

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
『創剤・創薬・創材支援を企図した医用ナノパーティキュレート  
システム基盤研究拠点の形成』－5年間を振り返って

研究代表者 市川 秀喜  
神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

ナノテクノロジーの有用性が謳われて以来、これを駆使して製されるナノ粒子の医療応用が脚光を浴びている。その中心は、DDS (Drug Delivery System) への応用であるが、現在までの研究は断片的なものに留まっており、治療効果の担保に必須となるナノ粒子の体内挙動は未明な部分が多く、合理的設計のための挙動解析や評価法の確立が待たれている。一方、ナノ粒子のサイズや大きな比表面積に由来する特異な性質は、DDSに留まらず、固液界面反応場を利用した医薬品・医療用材料の新規な合成システムの構築など従来無かった科学技術をも創出しうるポテンシャルを秘めている。

こうした背景のもと、神戸学院大学が2006-10年度文部科学省学術フロンティア推進事業の助成のもとで培ってきたテーマのうち、医用ナノ粒子に掛かるものを中核に据えて広く発展・展開させるべく、そのレギュラトリーサイエンスとエンジニアリングに焦点を当てた研究計画が立案された。それが『創剤・創薬・創材支援を企図した医用ナノパーティキュレートシステム基盤研究拠点の形成』プロジェクトであり、文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業の採択課題として2012年度よりスタートした。このプロジェクトは、医療におけるナノ粒子の有効利用と安全性のエビデンスに関して、2つのテーマを設定し、薬理学、薬剤学、製剤工学、界面化学、粒子工学、生物工学、有機化学の専門家とともに分野横断的に包括的な学術研究を推進し、これを通じた基盤研究拠点の形成を目的としている。

第一テーマでは、「ナノ粒子の生体内挙動の系統的理解と制御因子の解明」に向けて、ナノ粒子と細胞（貪食細胞系）・組織（血管系）・生体個体間の相互作用評価を行ってきた。その結果、貪食細胞によるナノ粒子の貪食特性や細胞内器官への局在化、血管リング標本へ暴露したナノシリカによる血管弛緩作用の発現など、これまで未明であったナノ粒子の挙動・作用に関する新しい知見を得た。また、個体レベルでの評価として、がん中性子捕捉療法用に開発したナノDDS製剤を実際に用いてマウスへ投与後の動態を調べ、特に腫瘍内滞留性にはナノDDSの粒子径が重要因子であることを明らかにしつつある。さらに、ナノ粒子と細胞間の相互作用の原子間力顕微鏡による評価系の確立も試みられた。第二テーマでは、「新しい創剤・創薬・創材技術の研究開発」として、本プロジェクトメンバーが独自開発した各種New Chemical Entityのキャリア用新規ナノDDS、ナノ粒子を利用した放出制御型微粒子製剤、ナノ粒子の標的化技術としての表面加工システム、ナノ粒子を利用する水中固相ペプチド合成法や医用接着剤の開発など、多面的な研究を展開してきている。

ここでは、本研究プロジェクトの5年にわたるこれら一連の活動と成果を概観しながら、このプロジェクトが果たした役割を総括してみたい。

## ナノ粒子表面特性と細胞進入量との関係性

松井 康人

京都大学 環境安全保健機構 安全科学センター

ナノ粒子の細胞内への取り込みはエンドサイトーシスを機序としており、これには粒子の表面修飾、及び粒径が取り込みに関与する可能性が報告されている。粒子物性が細胞への取り込みに関与するとの報告は多いものの、どの物性が細胞への取り込みに寄与しているのかについては、未だ十分な知見が得られていない現状がある。そこで、本研究では、ナノ粒子の物理化学的パラメータの内、表面修飾と粒径に着目することで、粒子の細胞内への取り込み量を定量、比較し、これらの関係性を明らかにすることとした。

表面修飾が異なる 3 種類（カルボキシル基、アミノ基、修飾基なし）のナノ粒子、及び粒径が異なる 4 種類（直径約 25、50、100、250 nm）のナノ粒子を用い、細胞内への粒子の取り込み速度、及び取り込み量を評価した。各粒子懸濁液を肺胞上皮細胞に 0.5、1、3、6、24 時間曝露させた。その結果、表面修飾の異なる粒子において、細胞内への取り込み速度については、粒子の表面修飾がカルボキシル基、アミノ基、修飾基なしの順に速いことが確認できた。取り込み量については、その最大量は表面修飾に依存しないことが示唆され、また粒径が大きい粒子ほど細胞内への取り込み速度が大きくなることが認められた。

ナノ粒子の細胞内への侵入は、受容体依存性エンドサイトーシスによる機序が主な経路であるとされている。細胞膜表面にある受容体のリガンド結合部は正に帯電しているため、負に帯電した粒子との間に引力が働き、静電的な相互作用によって受容体付近に接近しやすくなると考えられる。本研究で用いた粒子のゼータ電位の絶対値は、表面修飾の異なる粒子においてはカルボキシ修飾、アミノ修飾、修飾されていない粒子の順に、粒径の異なる粒子においては、粒径の大きい粒子ほど大きくなっていった。したがって、より負に帯電している粒子ほど受容体との間に強い引力が働き、より細胞表面に近づきやすくなるため、マクロピノサイトーシスによる取り込みや受容体と結合する機会が多くなり、取り込み速度が速くなったことが示唆される。また、粒子の表面電位だけでなく、親水性も細胞への取り込みに関与する可能性が挙げられた。親水性がある分子同士では様々な分子間力が働くため、親水性の高い粒子ほど細胞膜との間に働く引力が強くなり、細胞膜に近付きやすくなることから、細胞内への取り込み速度が大きくなったとの結論に至った。

## チタン酸化物と放射線の併用によるがん治療戦略提案

荻野 千秋

神戸大学 大学院工学研究科 応用化学専攻

がんの放射線治療は、高エネルギーを与えることによって活性酸素種(ROS; Reactive Oxygen Species)を生成させ、がん細胞にダメージを与えることによって治療する。身体内には溶存酸素があり、これに放射線照射を行うと、電離しヒドロキシラジカル( $\cdot\text{OH}$ )等の活性酸素種を生成する。ROS は反応性が高く、DNA 近傍で生成すると DNA 鎖を切断する。正常細胞の場合は、DNA 修復が即座に行われるが、がん細胞は修復能が低く、その場合は細胞死を誘導することができる。しかし、一般的に使用されている X 線では身体深部の腫瘍や一部のがんには効果が小さいという欠点がある。X 線は透過率が高いと言われているが、線源から離れるにつれてエネルギーは減衰し、身体自体も減衰の障害となるので、身体内部には十分な放射線量が届かない。また、がん細胞は、爆発的な増殖によって低酸素状態となっているので、放射線で電離すべき酸素が欠乏している。以上より、身体内部の腫瘍の放射線治療は難しいとされており、現在、放射線照射には以下に述べる薬剤等の併用による、新しい治療法の提案がなされている。

### 放射線増感治療：

X 線を用いた放射線療法 of 改善策として、「放射線増感剤」を用いた放射線増感療法がある。「放射線増感剤」とは、放射線の効果を向上させる薬剤である。上述のように、腫瘍内は酸素欠乏状態なので、放射線の電離作用で生じる ROS が減少し、放射線抵抗性を持つ。それを解消するために、放射線照射に先駆けて腫瘍内に放射線増感剤を蓄積させ、その上で放射線照射することで、がん細胞に対して本来の放射線の傷害効果を与えさせることができる。

### 無機ナノ粒子と放射線照射の併用によるがん治療の提案：

以上の研究背景より本研究グループでは、放射線照射によって効果的に ROS を発生可能な金属ナノ粒子(及び酸化金属ナノ粒子)を探索し、二酸化チタンを過酸化水素で処理した”過酸化チタン “にその機能を有する事を見出すことに成功した。

過酸化チタンは、酸素を発生させて抗酸化酵素を阻害する性質を持つ過酸化水素と、放射線照射によってラジカルを発生させ、細胞傷害することができる性質を持つ二酸化チタンを組み合わせた機能を有すると考えられ、既存の放射線増感剤より大きい細胞傷害効果が期待できると考えている。高エネルギーで生体深部まで透過できる放射線と、過酸化チタン・ナノ粒子を併用することができれば、過酸化チタン・ナノ粒子は将来有望な放射線増感剤になりえると考えた。さらには、ナノ粒子と放射線照射の併用による “過酸化チタン / 放射線併用療法” によって、難治療性や深部に存在する腫瘍 (がん細胞) の効率的な死滅誘導が可能になるのではないかと考えた。

## Chiaki OGINO



Present address: Department of Chemical Science and Engineering,  
Graduate School of Engineering, Kobe University,  
Rokkoudai-chou 1-1, Nada, Kobe 657-8501,  
JAPAN

## Education:

- 1993.4 - 1995.3 Department of chemical engineering, Faculty of engineering, Kobe University, Japan
- 1995.4 - 1997.3 Department of chemical science and engineering, Graduate school of science and technology, Kobe University, Japan
- 1997.4 - 1999.7 Division of molecular science, Graduate school of science and technology, Kobe University (Doctor course), Japan
- 2002.3 Awarded the degree of doctor of engineering in biochemical engineering, Kobe University for thesis entitled "Characterization of phospholipase D (PLD) from *Streptoverticillium cinnamoneum* and its application for phospholipid synthesis". Work supervised by Professor H. Fukuda

## Research and Professional Experience:

- 1999.1 - 1999.7 JSPS Research Fellowships for Young Scientists
- 1999.8 - 2001.12 Assistant professor, Department of chemistry and chemical engineering, Kanazawa University, Japan
- 2002.1 - 2007.7 Assistant Professor, Division of Material Engineering, Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, Japan
- 2007.8 - 2016.9 Associate Professor, Department of Chemical Science and Engineering, Graduate School of Engineering, Kobe University
- 2016.10 - Professor, Department of Chemical Science and Engineering, Graduate School of Engineering, Kobe University

## Awards: 2007.3

Young research award for encouragement in Society of Chemical Engineers, Japan

2010.9

Young research award for encouragement in Society for Biotechnology, Japan

## Research interests:

Yeast breeding for bio-refinery  
Ethanol fermentation from cellulosic material  
Metabolic engineering in *Streptomyces*  
Protein expression by fungi and *Streptomyces*  
Application of AFM to bimolecular interaction assessment  
Application of nanoparticle to cancer therapy

## Membership:

Society of Chemical Engineering, Japan (1993 ~)  
Society for Biotechnology, Japan (1999 ~)  
Japan Society of Enzyme Engineering (2000 ~)  
Chemical Society of Japan (2003 ~)  
Society for Actinomycete Japan (2006 ~)  
Japan Society for Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry (2007 ~)

## 脊髄グリア細胞から探る痛みの慢性化メカニズム

○津田 誠

九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野

痛みは、傷や障害の有無を生体に認識させる重要な警告信号であるが、末期がんや糖尿病などで発症する慢性疼痛は、患者の QOL を低下させ、さらに原因疾患治療にも悪影響を及ぼす。そのような慢性疼痛は、神経の損傷や圧迫、機能異常に起因する場合があります。神経障害性疼痛と呼ばれ、モルヒネにも抵抗性を示すことがある。しかし、その発症維持メカニズムは未だ不明な点が多い。神経障害性疼痛は大変深刻な問題となっており、社会・経済的インパクトも大きいことから、そのメカニズムを解明し、新しい治療薬を開発することは生命科学において重要な課題の一つである。

従来の研究では、神経の障害が原因で発症する慢性疼痛であるため、神経細胞での変化が主に注目されてきた。しかし我々は、神経障害性疼痛モデルの脊髄後角で P2X4 受容体がミクログリアに高発現し、その受容体の薬理的遮断や遺伝子ノックアウトにより疼痛が抑制されることを見出した。ミクログリアは、神経損傷などに応答してさまざまな遺伝子を発現し、活性化状態へと移行する。我々は、神経損傷後に脊髄で発現増加する遺伝子として転写因子 IRF8 と IRF5 を特定し、IRF8 が誘導する IRF5 が P2X4 受容体遺伝子プロモーターに作用することで P2X4 受容体の発現が増加することを明らかにし、IRF8-IRF5 転写因子カスケードが P2X4 受容体陽性ミクログリアを作り上げ、神経障害性疼痛の発症に寄与することを示した。一方、P2X4 受容体の内因性リガンドである ATP の放出源は長らく不明であったが、最近我々は、ATP の放出に重要な小胞ヌクレオチドトランスポーター VNUT の欠損やノックダウンにより神経障害性疼痛が抑制されることを見出した。これまで、VNUT を介した ATP 放出は様々な細胞種で想定されていたが、我々は脊髄後角ニューロン特異的 VNUT 欠損マウスで ATP 放出および神経障害性疼痛が抑制されることを明らかにし、脊髄後角ニューロンが神経障害性疼痛を引き起こす ATP の放出源である可能性を示した。以上の成果は、活性化ミクログリアが神経損傷によるニューロンの機能異常および神経障害性疼痛に非常に重要な役割を果たしていることを一貫して示している。本発表では、上記の成果に加えて、P2X4 受容体を標的にした創薬に関する九大の最近の取り組みも併せて紹介したい。

## Synthetic transmembrane anion transporters

Wen-Hua Chen (陳文華)

School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, P. R. China  
(中国 南方医科大学 藥学院) Email: [whchen@smu.edu.cn](mailto:whchen@smu.edu.cn)

Anion transport across a cell membrane plays a crucial role in the functioning of biological systems. Dysfunction in this process may lead to some serious disorders, such as cystic fibrosis that is caused by the malfunction in natural chloride ion channels. Therefore, during the past decades, considerable interest has been attracted in identifying small-molecule organic compounds that are capable of efficiently mediating the transport of anions, in particular chloride anions across lipid bilayer membranes.<sup>1</sup> These so-called synthetic anion transporters may find diverse applications, for example, in new drug discovery.<sup>1c</sup> In this field, we have used cholic acid and benzimidazole to create a series of anion-selective transmembrane transporters (Fig. 1), and investigated their anionophoric activity in detail.<sup>2,3</sup> Herein we communicate our findings.

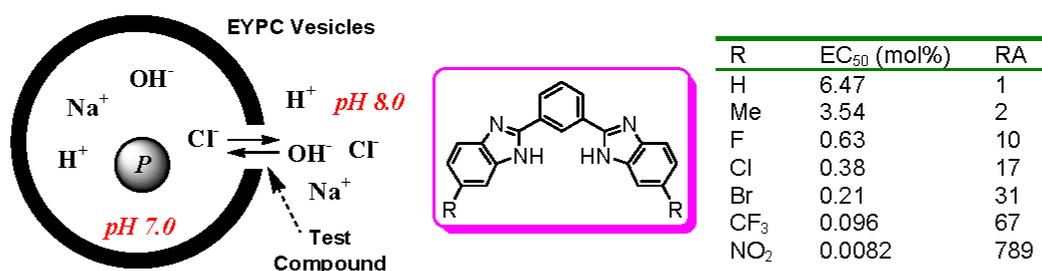


Fig. 1. Structures and anionophoric activity of 1,3-bis(benzimidazol-2-yl)benzene and its derivatives.

### Reference

- (a) Z. Li, W.-H. Chen, *Mini-Rev Med Chem.* **2016**, accepted; (b) N. Busschaert, C. Caltagirone, W. Van Rossom, P. A. Gale, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8038; (c) N. H. Evans, P. D. Beer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11716; (d) I. Alfonso, R. Quesada, *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 3009.
- (a) Z. Li, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 3665; (b) Z. Li, *et al*, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 11761; (c) L.-Q. Deng, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 745; (d) Y.-M. Lu, *et al*, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 43444; (e) L.-Q. Deng, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 2859; (f) Y.-M. Lu, *et al*, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 8221; (g) J. Zhou, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3145; (h) W.-H. Chen, *et al*, *Chem. Biodiv.* **2013**, *10*, 385; (i) W.-H. Chen, *et al* *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 4010.
- (a) C.-C. Peng, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2442; (b) C.-C. Peng, *et al*, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 8232 (“2016 Hot Articles in Organic and Biomolecular Chemistry” and “Recent HOT articles in Organic and Biomolecular Chemistry”).

## ナノパーティクルの血管への作用

The Nanoparticle induces the vasoconstriction and vasorelaxation

○屋山勝俊, 宮川葉月, 松尾愛子, 小野寺 章, 河合裕一

神戸学院大学 薬学部 循環器薬理学研究室

様々な形でナノパーティクルが利用されており、生体に適用されたる機会も増えている。中でも、粒子径の小さなナノパーティクルは、非特異的に組織へ移行し細胞内への侵入等がおこり、これまで予期しなかった毒性の発現も懸念されている。そこで我々は、ナノパーティクルの血管系への影響を知る目的で、摘出血管並びに細胞を用いて検討を行ってきた。ナノパーティクルが血管内皮細胞へ何らかの影響を及ぼすかを知る目的で、ウシ大動脈内皮細胞へナノパーティクルを添加すると、細胞内カルシウム濃度の上昇が起こることを認めた。そこで、ナノパーティクルが血管の機能に影響するかを知る目的で、ナノシリカ (nSP) その結果、予めフェニレフリンで収縮させたリング標本に、nSP を添加すると、nSP 70 (粒子径 70 nm) 添加では約 75%、nSP 300 (粒子径 300 nm) で約 15%、mSP 1000 (粒子径 1000 nm) で約 10% の弛緩を認めた。しかし、nSP 70 をアミノ基あるいはカルボキシル基で修飾した nSP 70 修飾体はいずれも弛緩を惹起しなかった。次に、この弛緩への一酸化窒素 (NO) の関与を明らかにすべく NO 合成酵素阻害薬、NG-nitro-L-arginine methylester (L-NAME) を用いて検討を行ったところ、ナノマテリアルによる血管の弛緩は、L-NAME 処置により抑制された。一酸化窒素合成酵素の活性化には、カルシウム/カルモジュリン系、ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ/Akt 系の関与が知られている。そこで、nSP 70 による血管弛緩に Akt 系が関与しているかを知る目的で、Akt 阻害剤ウォルトマニンを用いて検討したところ、nSP 70 による血管弛緩反応は、ウォルトマニン前処置により抑制された。

そこで、nSP 70 により eNOS リン酸化、あるいは Akt リン酸化が起きているかを、ウシ大動脈内皮細胞を用いて検討したところ、nSP 70 は、eNOS、Akt の両者のリン酸化を亢進させ、Akt、eNOS のリン酸化は、ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI3K) の阻害薬、ウォルトマニン前処置により抑制された。これら結果より、ナノマテリアル nSP 70 による血管弛緩反応には、PI3K/Akt 系を介した eNOS の活性化が関与しているものと考えられた。次に、ナノパーティクルが血管平滑筋細胞へ何らかの影響を及ぼすかを知る目的で、ラット大動脈平滑筋細胞へナノパーティクルを添加すると、細胞内カルシウム濃度の上昇が起こることを認めた。そこで、ナノパーティクルが血管の収縮を誘発するかを、血管内皮細胞を除去したリング標本に nSP を添加すると、血管が収縮することを認めた。以上の結果は、ナノマテリアルの一つ、ナノシリカが血管機能へ影響を与えることを示している。しかしながら、どのような機構を介し、血管機能へ影響を与えるかの詳細については明らかにすることができず、今後の課題である。

## 動物細胞と微生物に対する微粒子の付着・取込

塚本 七海<sup>1</sup>, 瀧口 未歩<sup>2</sup>, 竹本 聡<sup>2</sup>, 柳場 俊亮<sup>2</sup>,  
 廣橋 由美子<sup>2</sup>, 瀬戸 弘一<sup>2</sup>, ○新戸 浩幸<sup>2</sup>,

<sup>1</sup> 福岡大学大学院 工学研究科 化学システム工学専攻

<sup>2</sup> 福岡大学 工学部 化学システム工学科

近年、ナノメートルサイズの粒子が世界中の工場や研究室で盛んにつくられ、高度な機能をもつ材料、医薬品、化粧品、食品、農薬などに使用されている。一般にナノ粒子は、比表面積が極めて大きい、高い表面活性・反応性を示すだけでなく、バルク体とは異なる特性をも示す。このため、ナノ粒子材料の生体曝露や環境放出による影響が問題になる可能性があり、このナノリスク問題を慎重に検討することが極めて重要になる。実際の生体内に侵入したナノ粒子は、臓器などを構成する細胞と接触する前に、様々なタンパク質を含む体液と接触する。このときタンパク質が粒子表面に吸着することが多いため、粒子は吸着したタンパク質を介して細胞と相互作用することになる。

そこで本研究では、様々な表面官能基やタンパク被覆層をもつナノ粒子が繊維芽細胞および大食細胞の表面に付着する粒子量を、フローサイトメトリー (Flow Cytometry, FCM) を駆使し、測定した。得られた結果を、コロイドプローブ AFM (Atomic Force Microscopy) による粒子-細胞間の付着力の結果と比較・検討した。このような動物細胞を用いた実験と同様な実験を、酵母に対しても行った。これにより、「細胞-ナノ粒子間の相互作用」の解明を目指した。

Fig. 1 に、細胞 1 個あたりの平均蛍光強度 (粒子付着量に相当) を示す。繊維芽細胞 L-929 へのナノ粒子の付着量は、FN >> IgG > BSA による被覆粒子の順に大きかった。一方、大食細胞 J774.1 へのナノ粒子の付着量は、IgG > FN >> BSA による被覆粒子の順に大きかった。FN 被覆粒子がいずれの細胞に対しても大きい付着量を示す原因として、FN は細胞接着性タンパク質の一種であるため細胞表面に存在するインテグリンと特異的に結合したことが考えられる。BSA 被覆粒子がいずれの細胞に対しても小さい付着量を示す原因として、BSA は生物的に不活性のため細胞表面と結合しにくかったことが考えられる。IgG 被覆粒子付着量が両細胞で大きく異なった原因として、IgG は免疫反応に関与していることが考えられる。具体的には、IgG の Fc 領域を認識する Fc 受容体が、繊維芽細胞には少数しかなく、大食細胞には多数あると考えられる。そのため IgG 被覆粒子は、繊維芽細胞とは結合しにくく、大食細胞とは結合しやすかったためだと考えられる。

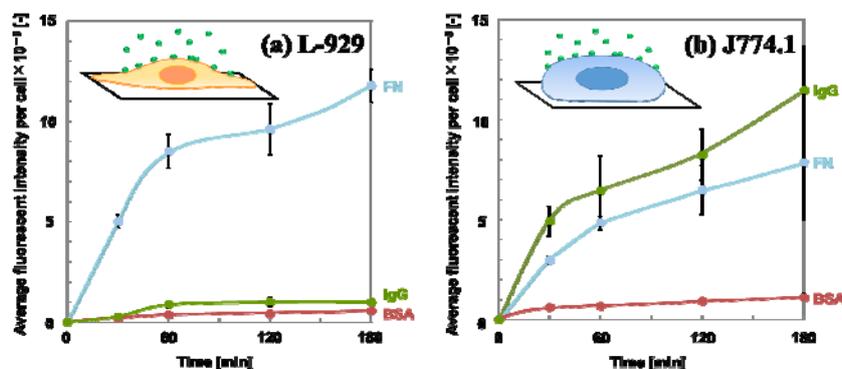


Fig. 1 Average fluorescence intensity per cell as a function of time for low-temperature exposure of 100-nm silica particles coated with BSA, IgG, or FN, whereby the cells allowed adhesion of the particles other than uptake of them: (a) L-929 and (b) J774.1 cells.

## ナノ粒子製造／ナノ構造制御技術の基盤整備と DDS への展開研究

○市川秀喜, 安藤 徹, 福森義信  
神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

物質をナノメートルスケールで微細加工する技術であるナノテクノロジーは、各種産業分野における次世代の基盤を担う重要な技術として注目され、研究開発が盛んに進められている。医療の分野では、ナノ粒子を薬物運搬体として用いる Drug Delivery System (DDS) に代表される先端医療技術としての展開が図られている。がんをはじめとする種々の難治性疾患の診断や治療システムへの応用が進められているが、その適応の対象となる有効成分・活性成分の物性は、千差万別である。そのためそれらを考慮し、さらには治療目的を達成するために最適化されたナノ粒子の製造技術の確立が必須である。加えて、治療効果の担保に必須の生体側でのナノ粒子の挙動を評価するための測定・解析技術も求められよう。特に、静脈内注入後のナノ粒子の動態評価は、DDS 用粒子のみならず、例えば、注射剤のガラスアンンプルカット時や混注時に生成しうる不溶性微粒子による障害性の予測と管理にも重要である。このような背景から、我々の研究グループは、ナノ粒子を利用した各種の有効・活性成分の DDS 開発において、目的とする機能を発現させるための処方や製法の最適化に関するナノ粒子製造技術の検討を行うとともに、がん中性子捕捉療法 (NCT) 用ナノ粒子製剤やガラスアンンプルカット時の不溶性微粒子の生成事象を中心に、ナノ粒子の体内動態等の評価法について検討してきた。

他方、現在まで、こうした DDS 開発におけるナノテクノロジーの利用は、ナノ粒子の製造に焦点が当てられている。ナノテクノロジーは、それに留まらず、従来型の固形製剤（錠剤や顆粒剤など）のナノレベルでの構造制御をも含む。種々のナノ粒子をビルディングブロックとして活用し、これを適当なアッセムブリング技術によって目的とする構造体に仕上げることにより、従来型の製剤であっても、これまでにない機能を持たせることが期待できる。そこで本研究では、こうしたナノ構造制御技術について、特に当研究室で既に確立した微粒子の湿式スプレーコーティング技術を中心に検討し、さらにそのマイクロ微粒子型 DDS 製剤への応用を試みてきた。具体的には、経口ペプチド送達用ナノゲル粒子製剤、難水溶性薬物ナノサスペンションを用いる速溶性微粒子製剤化、感温性ナノ粒子を用いる温度応答性パルス放出制御型微粒子製剤、ナノ多孔性核粒子を用いるバイオ医薬品の皮下埋め込み型徐放性微粒子製剤などである。さらには、微粒子コーティングの実用的視点における課題に対して従来の湿式から新たに乾式への展開を図るべく、自製のコーティング装置やナノパウダーと称する高分子コーティング剤の開発やナノバインダー粒子の製造とこれを活用した乾式造粒プロセスの開発も手がけてきた。

本発表では、これらナノ粒子製造／ナノ構造制御技術の基盤整備にかかる一連の研究テーマについて、この5年間にわたって遂行してきた中で得られた成果を報告する。

## グリーン・サステイナブルケミストリーを志向するペプチド合成： ナノ粒子型反応分子を用いるマイクロ波水中合成の開発

○北條恵子<sup>1,2</sup>，日高興士<sup>1,2</sup>，福森義信<sup>2,3</sup>，市川秀喜<sup>2,3</sup>，津田裕子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学薬学部 薬品化学研究室，<sup>2</sup>神戸学院大学薬学部 LSC，

<sup>3</sup>神戸学院大学薬学部 製剤学研究室

当研究室ではグリーン・サステイナブルケミストリーを志向したペプチド合成法の開発をここ 10 年に渡って行ってきた。戦略基盤研究においては、水分散型ナノ粒子とした保護アミノ酸を水中で用いる水中固相合成法の開発を進めてきた。本手法の一般汎用化を目指し、マイクロ波照射による水中合成の迅速化、また副反応の抑制方法についても検討を行ってきた。当初、5 残基程度のペプチドの合成に相当の時間を要していたが、現在は従来の有機溶媒中の合成と遜色ないまでの合成時間で、純度よく中程度の長さのペプチドが得られるまでの手法となった。グリーン・サステイナブルケミストリーの 12 原則に本手法を照らし合わせてみると、安全な溶媒の使用、原子効率の向上など 4 項目ほど改善された。現在、その他 8 項目のうちいくつかの項目、例えば最小保護での合成など検討を進めている。

今回の報告では、本基盤研究におけるこれまでの研究の成果として「水分散型ナノ粒子を用いるマイクロ波水中ペプチド固相合法」(図 1) についての総論を論じたい。特に、水中合成の迅速化、合成困難ペプチドの合成と課題、ラセミ化の抑制等について、その詳細をまとめて報告する予定である。

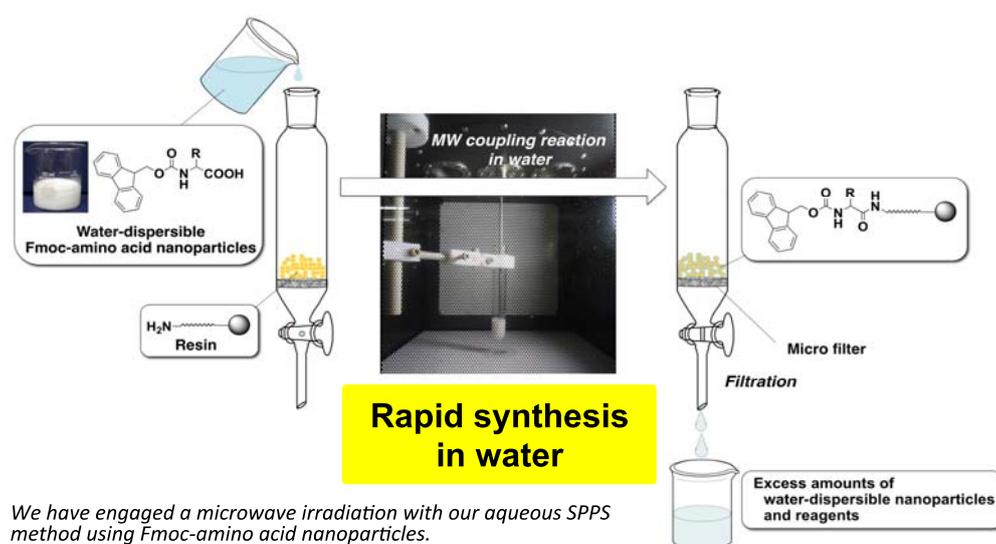


図 1. 水分散型保護アミノ酸ナノ粒子を用いるマイクロ波水中ペプチド合成法

## 両親媒性リポペプチドによる抗腫瘍活性の増強とリポソーム膜修飾

○宮崎杏奈<sup>1,2</sup>、北野佑季<sup>1</sup>、日高興士<sup>1,2</sup>、水品善之<sup>2</sup>、津田裕子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学薬学部 薬品化学研究室、<sup>2</sup>神戸学院大学 LSC

[目的] 臨床で使用されている抗ガン剤の多くは、その有用な生物学的活性の一方で深刻な副作用を発現する。その背景のもと、薬物のバイオアベイラビリティを向上させるべく、近年さまざまなドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発研究が活発に行なわれている。中でもドラッグキャリアとしてリポソームを用いる研究は多様的で、その有用性については十分に評価されている。

Kéri らによって報告されたソマトスタチンアナログである TT-232 [H-D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>]は、種々のガン細胞に有効であるが、疎水性が高く扱いにくく、バイオアベイラビリティを良好にするためには投与方法等において工夫が必要とされる。そこで我々は、TT-232 の薬効を増強かつ最大限に発揮させることを目的とし、miniPEG や両親媒性のさまざまなリンカーを介して脂肪酸を結合した両親媒性リポペプチドを合成した。さらに、それらのうち HCT116 細胞において強力な抗腫瘍活性を示したリポペプチドを、リポソーム膜へ挿入することでリポソーム化を行った。

[結果および考察] 合成は、一般的なペプチド合成にて行い、抗腫瘍活性の測定は、レサズリン試薬を用いた細胞生存率を指標とした。いくつかのリポペプチドは、HCT116 細胞に対して TT-232 よりも強力な抗腫瘍活性を示した。特に V<sub>2</sub>A<sub>2</sub>K<sub>3</sub> リンカーを含むリポペプチドは TT-232 の 3 倍強力であった。興味深いことに、TT-232 の活性配列である Tyr-D-Trp-Lys は linear では非活性であったにも関わらず、リポペプチドへと変換することで非常に強力な抗腫瘍活性を示した。リポペプチドと DOPC からなるリポソームをさまざまな濃度比で混合し、リポペプチドを DOPC リポソーム膜へ post insertion 法にて挿入した。得られたリポソームのゼータ電位および蛍光測定を行い、リポペプチドが効率よくリポソーム表面に修飾されたことを確認した。各リポソームの抗腫瘍活性についてリポソーム化前後で比較検討した。TT-232 を有するリポペプチドは linear では非常に高い疎水性を示したが、リポソーム化することによって純水系に分散することにも成功し、今後の検討では、そのバイオアベイラビリティにも期待したい。

## 表面加工ナノ粒子をベースとしたドラッグデリバリーシステムツールの 効率的な生産システムの開発

○田端厚之, 長宗秀明

徳島大学大学院 生物資源産業学研究所

【序論】我々は、細菌が保有する様々な機能性タンパク質の特性解析と、その応用、特にドラッグデリバリーシステム(DDS)への応用に関する検討を進めている。これまでに、グラム陽性病原細菌が産生する外毒素であり、標的細胞膜に膜孔を形成するコレステロール依存性細胞溶解毒素(CDC)について、その受容体認識特性や膜孔形成活性を利用した新規DDSツールに関する検討を行い、その成果について報告してきた。このCDCの応用性に関する検討に続いて、現在はグラム陽性細菌由来のペプチド転移酵素であるSortase A(SrtA)の作用を利用し、リポソームなどのナノ粒子の表面を、標的とするガン細胞に対して結合親和性を示すペプチドやタンパク質で修飾した新規DDSツールの作製を目指している。これまでに、様々なグラム陽性細菌由来のSrtA組換え体の調製やその基質認識性などの反応特性に関する検討を行い、SrtA組換え体を用いた*in vitro*ペプチド転移システムの基本反応条件の確立を終えており、引き続きその応用展開について検討している。その一環として、このSrtAをカラム担体へ固定化してカラムに充填したSrtA固定化カラムを作製し、このカラムを用いた簡便かつ効率的なDDSツールの作製システムの構築について検討を行っている。今回は、担体ビーズに固定化したSrtAの特性や、作製したSrtA固定化カラムによるナノ粒子へのペプチド転移反応の検討を行った。

【結果と考察】SrtA組換え体(未固定SrtA)、SrtA組換え体をカラム担体ビーズにキレート反応によって固定化したSrtA固定化ビーズ、及びSrtA固定化ビーズをカラムに充填したSrtA固定化カラムについて比較検討を行った。また、ナノ粒子モデルとして、表面にアミノ基を持つポリスチレンビーズに二価架橋試薬を介してSrtA受容ペプチド(GGGGGC)を連結した受容粒子を用いた。受容粒子と蛍光性転移基質(GFP-LPETGG)を各SrtA標品により反応させ、ペプチド転移活性を自動細胞解析装置により評価した。その結果、作製したSrtA固定化カラムとの反応で、受容粒子表面へのペプチド転移活性によるGFPの固定化が確認されたが、未固定SrtAと比較するとその活性は低かった。これは、SrtA固定化カラム中を通過させるだけではSrtAと基質との接触頻度が低く、さらに反応条件の検討が必要と考えられた。しかしながら、SrtA固定化カラムのペプチド転移活性の安定性を評価した結果、少なくとも冷蔵保存すると1か月以上安定で反復使用が可能なが確認され、SrtA固定化カラムの実用的な有用性が示された。引き続き、scFv抗体やリポソームなどをモデル基質に用い、ペプチド転移活性やその安定性を高めた高性能SrtA固定化カラムの作製について検討を進めている。

## 2016 年度 研究活動の総括

### － 基礎研究からの発信を臨床に還元するには？ －

徳山 尚吾

神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室

我々は種々の疾患の発症メカニズムの解明に焦点を当て、日々研究活動を行っている。ここでは本年度に実施した内容の一部について紹介する。

#### ・GPR40/FFAR1 を介する精神・神経制御機構の解明

長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 を介した精神・神経制御機構について、受容体欠損動物を用いて検討した (Aizawa, Tokuyama *et al.*, J Pharmacol Sci., 2016)。さらに、アストロサイトから遊離する n-3 系不飽和脂肪酸が炎症反応に関与することを報告した (Aizawa, Tokuyama *et al.*, Biol Pharm Bull., 2016)。

#### ・耐糖能障害による脳血管障害増悪機序の解明

脳虚血後の高血糖による神経障害の増悪機序における脳内 sodium-glucose transporter-1 の関与について検討した (Yamazaki, Tokuyama *et al.*, J. Pharm. Pharmacol., 2016; Yamazaki, Tokuyama *et al.*, Eur. J. Pharmacol., *in press*; Yamazaki, Tokuyama *et al.*, J. Pharmacol. Sci., *in press*)。

#### ・脳卒中後疼痛の発現機序の解明および治療戦略の確立

全脳虚血モデル動物を用いて、神経障害性疼痛の発症機序について、プレテオーム解析 (Harada, Tokuyama *et al.*, Biol. Pharm. Bull., 2016)、鎮痛補助薬の効果の有無 (Matsuura, Tokuyama *et al.*, Biol. Pharm. Bull., 2016; Matsuura, Tokuyama *et al.*, NeuroReport, 2016) および HMGB1 の関与 (Harada, Tokuyama *et al.*, Brain Res., 2016) について検討を加えた。

#### ・幼少期ストレスによる成熟期の疼痛への影響とその発症機序の解明

幼少期ストレス負荷後の脳内リン酸化 ERK の活性変化が疼痛行動に影響する可能性を提唱した (Nishinaka, Tokuyama *et al.*, Eur J Pain, 2016)。

#### ・非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の発症機序の解明

NASH の発症機序における耐糖能異常の関与について報告した (Harada, Tokuyama *et al.*, J. Pharm. Pharmacol., *in press*) 。

以上、我々は常に臨床現場を意識した基礎研究を行っている。しかしながら、臨床への還元については、未だ何らの達成感も得られていない。今後も日々の研究が一方向的な発信に留まらず、臨床との接点を見据えながら遂行していき、精進して参りたい。

## シリカ粒子による炎症性サイトカイン活性化と細胞障害

○榎本 理世, 李 英培  
神戸学院大学薬学部薬理学研究室

これまでの研究成果発表会において、特定の粒子径のシリカ粒子貪食により、粒子数に依存したマクロファージの細胞障害（細胞死）が起こることを報告してきた。近年、アポトーシスおよびネクローシスに加えてピロトーシスという新しい細胞死の概念が提唱され、感染によりマクロファージに誘導される炎症性の細胞死がこれに該当するとされていることから、シリカ粒子によるマクロファージ細胞死の様式について検討を行った。

マウスの腹腔内にチオグリコール酸培地を投与して誘導されたマクロファージを採取し、*in vitro*での検討を行った。添加した 100 nm 粒子と 1000 nm 粒子の総評面積が等しくなる量（表）で細胞とシリカ粒子を一定時間反応し、貪食させた。反応後に培養上清中に含まれる逸脱酵素（乳酸脱水素酵素, LDH）や炎症性サイトカインを測定した。1000 nm シリカ粒子により有意な LDH の漏出が見られ、細胞障害が認められた（表中の※印の添加条件）。このときと同じ総表面積となるように 100 nm 粒子を添加し貪食させたが、いずれの場合にも LDH の逸脱は見られなかった（表 1. C-E 右端カラム）。そこで、さらに多くの 100 nm 粒子を添加して実験を行ったが、LDH の漏出は起こらなかった（表 1. F-G 右端カラム）。このことから、同じシリカ基材の粒子でも粒子径によって細胞に与える影響が異なることが判明した。

1000 nm シリカ粒子による細胞障害の様式について明らかにするために、炎症性サイトカインの 1 つである IL-1 $\beta$  産生の有無を調べた。1000 nm シリカ粒子によって細胞障害が惹起された条件（表 1. C-D 中央カラム）において、培養上清中への IL-1 $\beta$  の著明な遊離が見られた。

IL-1 $\beta$  の産生には上流での活性型カスパーゼ-1 が必須であり、IL-1 $\beta$  の遊離はカスパーゼ-1 活性化を示唆している。ピロトーシスはカスパーゼ-1 依存性の細胞死であり、IL-1 $\beta$  や IL-18 などの炎症性サイトカインの産生と細胞外への遊離を伴うことが特徴であることから、1000 nm シリカ粒子による細胞障害はピロトーシスであることが示唆された。

	細胞 (個)	1000 nm (個)	100 nm (個)
A	1	10	1000
B	1	50	5000
C	1	100※	10000
D	1	200※	20000
E	1	500※	50000
F	1	—	100000
G	1	—	200000

表. 細胞 1 個当たりの粒子添加量

ガラス製アンプルカットにより発生したナノサイズの不溶性微粒子の  
リスク評価 – イメージング素子含有ガラス粒子の調製 –○磯野 絵梨香<sup>1</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 日置和人<sup>2</sup>, 福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup><sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室, <sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 機能分子化学研究室

【目的】注射用ガラス製アンプルのカットにより発生するガラス様不溶性微粒子の危険性は、かねてから指摘されてきた。現在、5  $\mu\text{m}$  以上の不溶性微粒子については、細動脈や毛細血管を閉塞する恐れがあるとの懸念から、これらのリスク回避のために、5  $\mu\text{m}$  フィルターによる不溶性微粒子の除去が臨床現場においては推奨されている。しかし、5  $\mu\text{m}$  未満の不溶性微粒子の危険性については明確なエビデンスが得られていない。とりわけ、発生する微粒子がナノサイズならば、そのサイズ効果によって予期せぬ有害事象の惹起にもつながりうる。そこで当研究室では、これまでにガラスアンプルカットによるナノサイズの不溶性微粒子の発生の有無と、その形状や粒子径分布について調査してきた。その結果、アンプルカットにより鋭く尖った形状で、450-800 nm の大きさに不溶性微粒子が比較的多く発生していることが分かった。よってナノサイズのガラスが生体に及ぼす影響について調べるべく、ガラス片の生体内挙動をトレースできるようにイメージング素子（量子ドット）を含む模擬ガラス粒子の調製を企図し、450-800 nm のガラスナノ粒子（GNPs）を得るための基本的な調製条件を調べた。本検討では、イメージング素子含有ガラスの GNPs 調製について検討した。

【方法】イメージング素子を封入した自製のガラス粒子を袋に入れ、金槌で叩いて粒子径 2-5 mm の大きさにした。5 mm ジルコニアビーズ（13.7 g）とガラス（0.5 g）のみで遊星ボールミルにより乾式粉碎を行った。次に、この乾式粉碎物へ蒸留水（4 mL）を加えて湿式粉碎を行った。湿式粉碎物を目開き 45  $\mu\text{m}$  の篩で篩下し、GNPs を得た。得られた GNPs の評価として、粒子径を動的光散乱式粒子径分布測定装置（LB-500, HORIBA）にて測定、走査型電子顕微鏡（SEM, JSM-6010PLUS/LA, JEOL）で粒子形状の観察を行った。また IVIS Lumina XR Imaging System（PerkinElmer Inc）で蛍光強度の測定、ブラックライト照射下での写真撮影をそれぞれ GNPs 調製直後と調製から 1 か月後に行った。

【結果・考察】遊星ボールミルで乾式・湿式粉碎することによりイメージング素子を封入した GNPs の調製に成功した。この時の粉碎の条件は、乾式粉碎を回転数 400 rpm、粉碎時間 30 分と固定して、湿式粉碎を回転数は 200 rpm で固定し、粉碎時間を 5 分間と 30 分間で行った。粉碎後の粒子形状は SEM 画像よりいずれも角の尖った形状となることが示された。また、粒子径は湿式粉碎 5 分間でメジアン径が 899 nm、30 分間で 427-613 nm となった。粒子径分布は目的とする 450-800 nm のフラクションがそれぞれ 31.1%、30.5-42.4%となった。また、粉碎後の GNPs はブラックライトを照射すると赤い蛍光を発した。しかし、IVIS により測定した蛍光強度は調製直後では  $4.0 \times 10^{10}$  [p/s] / [ $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ]であったが、1 ヶ月後に測定すると  $3.3 \times 10^{10}$  [p/s] / [ $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ]まで減少していた。以上の検討から、目的とする粒子径かつ粒子形状の GNPs を概ね調製することができた。しかし理想とする 450-800 nm のフラクションでの収率や蛍光の持続時間についてはまだ課題が残る。今後、これらの課題を改善し、生体内挙動の評価に資するものが得られれば、動物への投与実験を検討していきたい。

ペプチド性薬物の経口送達用 Core-Shell 型ナノゲル粒子の調製と評価：  
薬物封入粒子の再分散性向上を目指した凍結乾燥条件の検討

○澤 彰洋, 安藤 徹, 福森義信, 市川秀喜  
神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

【目的】消化管吸収性の低いペプチド性薬物の経口剤開発には、薬物吸収の主なバリアとなる“酵素分解”と“消化管粘膜透過性”という2つの問題を解決することが求められる。微粒子キャリアーを利用する経口ペプチド送達法として、当研究室では core-shell nanogel particles (CSNPs) を開発した。CSNPs は core が温度応答性 poly(*N*-isopropyl acrylamide) (32°C 以上で収縮), shell が pH 応答性 poly(Methacrylic acid-*g*-Ethylene glycol) (酸性 pH で収縮, 中性 pH で膨潤) からなるナノハイドロゲル粒子である。CSNPs へのペプチド性薬物の封入によって、胃内環境では core と shell 層が共に収縮することで薬物の粒子内保持が、小腸では中性 pH によって膨潤した shell 層の拡散障壁能の低下による薬物放出に加え、膨潤 shell 層の粘膜付着作用、細胞間隙開口作用により薬物の消化管透過性の改善が期待できる。これまでの検討から、CSNPs のラットへの経口投与において、CSNPs の胃内での凝集が確認された。これは経口投与時に CSNPs がサブミクロンサイズまで再分散していないことが原因であると推察される。本研究では、薬物封入 CSNPs の再分散性向上のため、凍結乾燥条件を検討した。

【方法】CSNPs は従前のラットへの経口投与の検討に供したタイプと同じ N-MP8/2 (core に shell 成分を一部含む処方) を調製した。バンコマイシン塩酸塩 (VCH, モデル薬物) の封入は平衡分配法を用いて行った。蒸留水で透析した粒子を希釈・凍結乾燥を行い、得られた乾燥粒子 100 mg に対し、PBS 溶液 (pH=13) を用いて pH=2.4, 3.8, 5.5, 6.4, 7.0 に調整した VCH 溶液 (150 mg/mL) を 800  $\mu$ L 加え薬物封入を行った。薬物封入後 0.1 N HCl を用いて3回洗浄し、炭酸ガス飽和水に CSNPs 濃度 0.25, 0.5, 2 mg/mL にて分散させ、再び凍結乾燥を行った。凍結乾燥前後の薬物封入 CSNPs の再分散性を動的光散乱法により評価した。

【結果・考察】pH=3.8 にて薬物を封入した粒子を、CSNPs 濃度を変更し凍結乾燥を行った結果、得られた粒子径はそれぞれ 0.25 mg/mL で 704 nm, 0.5 mg/mL で 693 nm, 2 mg/mL で 880 nm となり、低濃度において再分散性が良好であった。さらに、CSNPs 濃度 0.5 mg/mL にて凍結乾燥を行った粒子は、回収量、粒子のハンドリング性が良好であったため、凍結乾燥条件として最適であると判断した。従前の検討において、pH=7.0 で封入後、CSNPs 濃度 2 mg/ml で凍結乾燥を行い得られた粒子径は 1744 nm であったが、pH=3.8 で封入した粒子は同濃度においてもサブミクロンサイズまで再分散した。そこで、封入時の VCH 溶液の pH が再分散性に与える影響を検討した。凍結乾燥後に得られた粒子径は、それぞれ pH=2.4 で 584 nm, pH=3.8 で 693 nm, pH=5.5 で 748 nm, pH=6.4 で 1267 nm, pH=7.0 で 1563 nm であった。凍結乾燥後の粒子がサブミクロンまで再分散し、かつ、ペプチド性医薬品をマイルドな条件で封入する上では、pH=5.5 での封入が最適と判断される。以上の結果より、CSNPs の凝集は凍結乾燥過程を経ることが原因と推察していたが、薬物封入時の分散状態が凍結乾燥後の薬物封入 CSNPs の再分散性に影響を与える主要因である可能性が示唆された。

## 難水溶性薬物の溶出改善を目的としたナノ結晶被覆粒子の調製とその錠剤化

○福山 愛<sup>1</sup>, 福島滉祐<sup>1</sup>, 兒玉智史<sup>2</sup>, 杉澤賢司<sup>2</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>, 福森義信<sup>1</sup><sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室<sup>2</sup>日本曹達株式会社

【目的】難水溶性薬物はその低い水溶性のため、経口投与における消化管液への溶解が吸収の律速過程になることから、薬物のバイオアベイラビリティの低下をもたらす。この課題に対して、比表面積の増大による薬物の溶解速度の増加を期待した湿式混合粉碎等による薬物結晶のナノ粒子化が試みられているが、得られる Nanosuspension (NS) は液状製剤であり、分散安定性や服薬利便性などに注意を払う必要がある。これらのことから当研究室では、Nanosuspension Spray Coating System (NSCS) と称する NS を被覆した固形微粒子製剤化の検討を行ってきた。本法に基づく製剤化では、モデル難水溶性薬物の水中での溶出は速やかであり、*in vivo* における薬物吸収性も改善された。しかし、処方内における大豆レシチン (SL) は吸湿性が高く、製剤化した際の保存安定性が懸念された。そこで、本研究では Hydroxypropyl cellulose (HPC) の持つ分散安定性を利用し、SL を除いた固形微粒子製剤 (MPs) とこの MPs を用いた錠剤の処方検討を行い、それぞれの薬物溶出挙動を評価した。

【方法】モデル薬物のグリベンクラミド (GLI, 水への溶解度 3.0 µg/mL), HPC (HPC-SSL, 日本曹達), 蒸留水をメノウポットに加え、遊星ボールミルで湿式混合粉碎し NS を得た。得られた NS をスプレー液とし、ドラフトチューブ付噴流層コーティング装置によって核粒子である乳糖粒子 (75-106 µm) 表面に被覆し MPs を得た。調製した MPs に滑沢剤としてステアリン酸マグネシウムを 0.53 wt% 添加して手混合した後、シングルパンチ錠剤機を用いて打錠圧 100 MPa で製錠した。薬物溶出挙動は日局パドル法溶出試験によって評価した。

【結果・考察】薬物と HPC のみで調製した NS (重量比として HPC:SL=1:0, 2:0) の平均粒子径は順に 167, 191 nm であった。SL を加えた処方の粒子径 149 nm とほぼ同等であったことから、HPC 単独でも NS の分散安定性は維持されることが分かった。MPs の収率、薬物含量、局方第 2 液中での再分散性は MPs (1:0) で順に 78.0%, 6.1%, 再分散せず, MPs (2:0) で順に 83.3%, 7.15%, NS と同等の粒子サイズである 145 nm まで再分散した。局方第 2 液中における溶出試験では、薬物 50 mg を含む MPs (1:0, 2:0) 各々の溶出濃度は 7.8 µg/mL, 63.6 µg/mL と著しい増加がみられた。この溶出濃度の増加は、HPC のもつ分散安定化作用によって NS と同等のサイズまで再分散を促すことに起因するものと考えられる。次に MPs (2:0) を錠剤化し溶出試験を実施したところ、溶出濃度は 4.8 µg/mL を示した。この溶出濃度は錠剤と同量の薬物量を含む MPs の溶出濃度と比較すると約 0.47 倍と顕著な溶出低下を認めた。この錠剤の崩壊時間は 56.2 分と長く、崩壊速度の低さが再分散や溶出を妨げているためと考えられた。そこで、崩壊剤として Crospovidone を 5.3 wt% 量加えて MPs を製錠したところ、得られた錠剤は MPs と同様の溶出挙動を示した。以上より、HPC をベースとする NS の固形製剤化の基本処方を見出せたが、現状では製剤中の薬物含有率は 5% に満たず、実用性に課題が残る。今後はその改善のための粒子設計を引き続き進めたい。

## ホウ素中性子捕捉療法用ナノサスペンション型 L-BPA 製剤の調製： 微細化と投与方法による体内動態への影響

○門田直紀<sup>1</sup>，安藤 徹<sup>1</sup>，藤本卓也<sup>2</sup>，福森義信<sup>1</sup>，市川秀喜<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 神戸学院大学薬学部・ライフサイエンス産学連携研究センター

<sup>2</sup> 兵庫県立がんセンター 整形外科

【目的】ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) では、腫瘍内の <sup>10</sup>B 濃度が治療効果発現の重要因子であり、20 μg/g wet tissue (ppm) 以上が必要とされ、<sup>10</sup>B をより高濃度かつ効率的に送達・保持可能な製剤が望まれている。我々の研究室では、<sup>10</sup>B 化合物として使用されている *p*-borono-L-phenylalanine (L-BPA) のナノサスペンション (NS) 製剤化を試みてきた。本製剤は、L-BPA が有する腫瘍選択的な集積性に加えて、その NS 化により腫瘍内に蓄積し、長時間の滞留を意図したものである。これまでに界面活性剤である Solutol® HS 15 (SO) と Soybean lecithin (SL) を用いて湿式混合粉碎を行った場合に BPA-NS の微細化を認めている。本研究では、異なる粒子径を持つ BPA-NS を担がん動物への腫瘍内直接投与、皮下投与することで体内動態に及ぼす粒子径と投与方法の影響を評価する。

【方法】BPA-NS は、遊星ボールミルによる湿式混合粉碎法で調製し、回転速度と粉碎媒体の変更によりその粒子径を調節した。粒子径を動的光散乱法、<sup>10</sup>B 濃度を ICP-AES 法により測定後、B16F10 細胞を大腿部皮下に移植した担がんマウスの背側頸部に皮下投与した。また、成長腫瘍の中心部から内容物を機械的に抜き取って疑似的にのう胞形成した担がんマウス (のう胞モデル) の腫瘍内へ直接投与した。所定時間後にマウスから採血、さらに各臓器を摘出し、各サンプル中の <sup>10</sup>B 濃度を測定した。別途、比較対象として、臨床使用されている溶液製剤である BPA-Fr (L-BPA の fructose 錯体水溶液) を使用した検討を行った。

【結果・考察】BPA-NSs の平均粒子径はそれぞれ 144-183 nm (NS-S)、283-358 nm (NS-L) であった。まず、腫瘍内直接投与では、BPA-Fr、NSs は共に投与後 5 min で約 300 ppm と高い蓄積を示すが、投与後 6 h での腫瘍内 <sup>10</sup>B 濃度は BPA-Fr が 29 ppm と急速に排泄されるのに対して、NSs は高濃度を維持し NS-S が 109 ppm、NS-L が 284 ppm と粒子間において異なる挙動を示した。100-200 nm とされている腫瘍血管間隙の通過に粒子径の差が影響したため、より大きな NS-L で滞留性が増したと考えられる。次に、皮下投与では、BPA-Fr の腫瘍内 <sup>10</sup>B 濃度は、投与後 1 h でピーク (42 ppm) を迎えるが、速やかに血中に移行するため投与後 9 hr で 7 ppm まで減少したのに対し、NSs 投与後は粒子が投与 24 h 後においても皮下に残存し、腫瘍内 <sup>10</sup>B 濃度は、NS-L が投与後 9 h でピーク (28 ppm) を、NS-S が投与後 6 h でピーク (36 ppm) を迎え、それぞれ 20 ppm を投与後 3-12 h までの 9 h にわたり維持した。これは皮下に残存した粒子が一定割合で血中に移行し続けたためと考えられる。特に NS-S では血中の <sup>10</sup>B 濃度・時間曲線下面積 (AUC) が 148 μg·hr/mL と NS-L の 109 μg·hr/mL に比べ有意に向上したことから、NS の微細化が血中移行速度の上昇をもたらした。NS-S では皮下に残留する粒子が減少したと考えられる。以上の結果より、BPA-NS の各投与方法は、臨床治療濃度域以上の腫瘍内 <sup>10</sup>B 濃度を長時間保持することが可能であり、その滞留時間と濃度は粒子径によって制御できる可能性があることが示唆された。

【P-6】

## 乾式微粒子コーティングにおける複合化コーティング剤ナノ粒子が被覆特性に及ぼす影響

○安永 峻也<sup>1</sup>, 中村一清<sup>2</sup>, 安藤 徹<sup>2</sup>, 福森 義信<sup>2</sup>, 市川 秀喜<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学 大学院薬学研究科 製剤学研究室

<sup>2</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

【目的】近年、口腔内崩壊錠やドライシロップに用いる 100  $\mu\text{m}$  程度の薬物放出制御能を有する微粒子を低コストで製造しうるプロセスとして、溶媒を使用せずに固体粒子を被覆させる乾式微粒子コーティング技術の開発が望まれている。市販の高分子材料を利用した研究例が報告されている<sup>1,2)</sup>が、それら市販材料は必ずしも乾式プロセスに最適化されたものではないため、実用に耐えうる収率や放出制御の達成は困難となる。当研究室では、これまでに単一の組成からなる自製の高分子ナノ粒子のガラス転移温度 (T<sub>g</sub>) を制御し、自製の振動型コーティング装置を用いて、核粒子への被覆に適した材料物性を見いだしている。本研究では、さらなる高効率の被覆を目指すべく、異なる T<sub>g</sub> からなる Core-Shell 型複合化コーティング剤ナノ粒子の合成を新たに試み、被覆特性と薬物放出制御能を評価した。

【方法】陰イオン交換樹脂 (38-150  $\mu\text{m}$ ) にジクロフェナクナトリウム (DS) を封入したものを核粒子とした。3 種のアクリル系モノマーを用いて粒子内部と外部で T<sub>g</sub> の異なる複合化ナノ粒子分散液を乳化重合法にて調製した。T<sub>g</sub>=50 °C 以下の Core に T<sub>g</sub>=80 °C の Shell を Core に対して 1 wt% と 10 wt% 導入した Soft/Hard 型 (S/H 型) と T<sub>g</sub>=60 °C 以上の Core に T<sub>g</sub>=30 °C の Shell を同様に導入した Hard/Soft 型 (H/S 型) を調製し、各ナノ粒子分散液を塩析後に凍結乾燥することでコーティング剤粉末 P/FD を得た。マイクロ形電磁振動ふるい器 M-2 形 (筒井理化学器械) を流用した振動型コーティング装置にて核粒子に対して 60 wt% の被覆を行い、被覆効率 (P/FD の仕込み重量に対する核粒子へ付着した P/FD の重量割合) を算出した。被覆粒子は T<sub>g</sub>+20 °C の温度で 12 時間加熱して成膜させ、被覆粒子の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察と被覆率および成膜処理した粒子の溶出挙動を評価した。

【結果・考察】S/H 型の T<sub>g</sub>=30 °C において、単一組成 (Core のみ) では被覆効率 30.5% にとどまったが、Shell 成分の増加に伴い、69.5%, 74.5% と高い値を示した。一方、T<sub>g</sub>=40 °C では、40.9%, 73.8%, 29.2% と Shell の量に最適値の存在が示唆され、T<sub>g</sub>=50 °C では、64.2%, 40.1%, 44.2% となり、複合化による被覆効率増大効果は消失した。反対に H/S 型では、どの T<sub>g</sub> においても被覆効率が 40 % 以下となり、Core の T<sub>g</sub> に関係なく同程度の被覆効率となった。薬物放出率は S/H 型の T<sub>g</sub>=30 °C の複合化群において 12 時間で 50% 以下と顕著な徐放性を示した。SEM 観察より、S/H 型において、単一の組成では P/FD が凝集体として付着し、不均一な被覆となる一方、複合化群では、Shell により、凝集体の解砕が促される様子が伺えた。コーティング剤ナノ粒子の構造を S/H 型に複合化することで単一組成での T<sub>g</sub> 制御では成し得ない付着と解砕のバランスを両立しうることを示された。

【参考文献】

- 1) K. Kondo, N.Ito, M. T. Niwa, K.Danjo, *Int. J. Pharm.* 453 523-532 (2013).
- 2) K. Ukita, M.Kuroda, H. Honda, M. Koishi. *Chem. Pharm. Bull.* 37(12) 3367-3371 (1989).

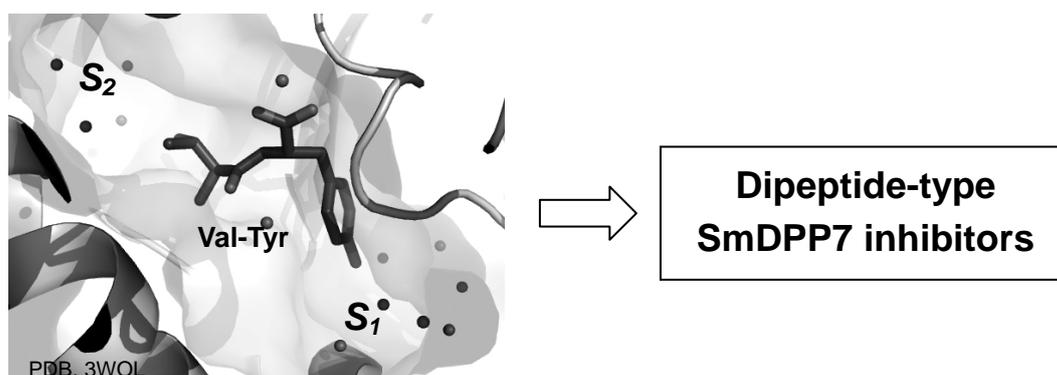
## *Stenotrophomonas maltophilia* 菌由来ジペプチジルペプチダーゼ 7 に対する 阻害剤の設計と評価 –宇宙ステーションで抗菌薬を開発する–

櫻井有紀<sup>1</sup>、○日高興士<sup>1,2</sup>、宮崎杏奈<sup>1,2</sup>、北條恵子<sup>1,2</sup>、六本木沙織<sup>3</sup>、阪本泰光<sup>3</sup>、  
伊藤康広<sup>4</sup>、鈴木義之<sup>4</sup>、小笠原渉<sup>4</sup>、田中信忠<sup>5</sup>、津田裕子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学薬学部 薬品化学研究室、<sup>2</sup>神戸学院大学薬学部 LSC、<sup>3</sup>岩手医科大学薬学部、  
<sup>4</sup>長岡技術科学大学工学部、<sup>5</sup>昭和大学薬学部

多剤耐性菌の一つである *Stenotrophomonas maltophilia* (Sm)はβラクタム系、アミノグリコシド系、キノロン系などの薬剤に感受性が低く、術後の高度の免疫不全を伴う患者が感染すると菌血症や重篤な肺炎を引き起こして死に至る。Smは糖非発酵グラム陰性細菌であり、炭水化物の代わりにタンパク質やペプチドを分解してアミノ酸を栄養源とする。Smの内膜にはペプチドからジペプチドを切り出すジペプチジルペプチダーゼ(DPP)7が存在し、菌の増殖に必須である。そこで、ヒトにはなくSmのみがもつDPP7に着目した阻害剤を合成し、多剤耐性の問題を克服する新しい作用機序の抗菌薬が開発できると考えた。

ジペプチドとの共結晶構造が既に解析されているジペプチジルアミノペプチダーゼ(DAP) BIIは活性中心の構造がSmDPP7と類似する。我々はDAP BIIとVal-Tyrジペプチドとの複合体では、S1ポケットとS2ポケットに水分子が多く観察され、広い空間があることを確認し(下図)、この広い空間を置換基で埋めることができれば、酵素との相互作用が高まると予想されることから、P1およびP2部位を構造変換した阻害剤を種々合成し、化合物のSmDPP7阻害活性を評価した。その結果、P1部位のチロシンを変換した誘導体はSmDPP7阻害活性を示さなかったが、P2部位のバリンを変換した誘導体が顕著なSmDPP7阻害活性を示し、ヒット化合物を得ることに成功した。現在、得られたSmDPP7阻害化合物の複合体構造解析を行うため、国際宇宙ステーション「きぼう」にてJAXA高品質タンパク質結晶生成実験が計画されている。本発表では、機能性ナノ粒子に用いるバイオアクティブなペプチドの探索として行ってきた抗がん剤としてのGGCT阻害剤、PML治療薬としてのJCVアグノプロテインのオリゴマー化阻害剤の研究成果と合わせて報告する。



## 拡張した P2 分子もしくは新規 P1' 分子を有するプラスミン阻害剤

### の設計

岩佐 直通<sup>1</sup>、榊田 昂志<sup>1</sup>、久野 元嗣<sup>1</sup>、日高 興士<sup>1,2</sup>、北條 恵子<sup>1,2</sup>、  
合田 圭吾<sup>3</sup>、手納 直規<sup>4</sup>、和中 敬子<sup>5</sup>、○津田 裕子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学薬学部, <sup>2</sup>神戸学院大学ライフサイエンス産学連携研究センター,  
<sup>3</sup>関西分子設計研究会, <sup>4</sup>広島国際大学医療栄養学部, <sup>5</sup>血栓止血研究プロジェクト

【目的】プラスミン(Plm)は血栓の除去に関わる線溶系において中心的役割を果たすトリプシン様酵素である。しかし、Plm が a) マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs)の活性化によるガンの組織浸潤および転移、b) サイトカインの活性化による炎症の発症、といった病態に関わっていることは広く知られている。我々は Plm の病態時の役割の解明、ならびに病態の改善を目的として、さらに、ナノ粒子に展開できる生理活性ペプチドを創製する一貫として、活性中心指向型 Plm 阻害剤、YO-2 (IC<sub>50</sub>=0.53 μM for Plm) [1]を基盤とした Plm 阻害剤の分子設計を 5 年間おこなってきた。

【結果および考察】YO-2 [1]はトラネキサム酸(Tra) (P1 残基)、Tyr(OPic) (P2 残基)、およびオクチルアミン (OA) (P1'残基)の 3 つの組成から構成されている [2]。5 年間の研究成果により、P2 残基を Pic 基からキノリン環に拡張して、阻害活性を 2.3 倍、ウロキナーゼとの選択性を 35 倍改善することができた。今年度は、1) P2 残基 Tyr のヒドロキシ基上にベンジル基を拡張し、その 4 位及び 3 位にカルボキシ、エステル、アミド各基を導入した。これら置換により阻害効果の大きな増強がみられなかったことから、P2 残基を拡張する際、水素結合・イオン結合を付加するより疎水性を付与する方が、相互作用の強化に効果的であることが示唆された；2) 近年、イミダゾール基を有する第 XIa 因子阻害剤が報告された。第 XIa 因子は Plm と同様にトリプシン様酵素であるので、P2'残基としてイミダゾール(Imi)を含む YO-2 誘導体を合成し、Plm 阻害活性への影響を検討した。得られた Imi 化合物は 772-2.17 μM の範囲の IC<sub>50</sub> 値を示し、H-Tra-Tyr(OPic)-Imi-X (X = Ph) は Imi シリーズ中、最も強い Plm 阻害活性を示した (IC<sub>50</sub> = 2.17 μM)。本発表では、今年度の成果を中心に、5 年間の成果のハイライトをあわせて紹介する。

[1] Okada Y, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 2217-2221 (2000).

[2] Gohda K, *et al.*, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **27**, 571-577 (2012).

## ナノ粒子界面での結合反応を利用した接触-接合技術の開発

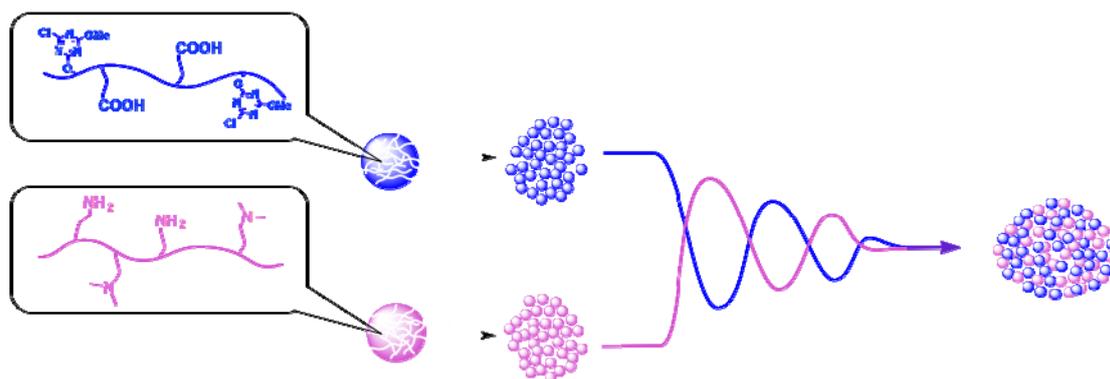
○日置和人<sup>1</sup>, 藤井文彦<sup>2</sup><sup>1</sup>薬学部 機能分子化学研究室<sup>2</sup>薬学部 生体光計測研究室

我々はこれまでに蓄積したトリアジン型縮合剤 DMT-MM に関する特徴, 即ち, 水中で脱水縮合反応が効率よく行える; 基質及び反応剤を加える順番を気にせず一度に混ぜるだけ, が標記の研究に好都合であり, 創傷部の治療に有効な医療用接着剤をはじめとする多様な利用が期待できると考えて本研究に取りかかった. クロロジメトキシトリアジン (CDMT) を前駆体として用いるトリアジン型縮合剤の反応では, 一度に混ぜた基質 (カルボン酸, アミン) と 3 級アミン (触媒) が順序よく反応し, 縮合剤の活性化→活性エステルの生成→アミド結合形成を効率よく行うことができる. この反応性を基幹とする以下の検討を中心としたこれまでの結果を総括的に報告する.

1. アミド化反応に関わるそれぞれの反応性基 (カルボキシル基, アミノ基, クロロトリアジニル基, 3 級アミノ基) を 2 つのグループに分けて別々のポリマーに導入し, それらを混ぜ合わせれば, 異なるグループ間の接触をトリガーとした界面でのアミド結合が次々に形成されると期待できる. これが各ポリマー間で連鎖すれば全体が多点で繋がった固体, つまり接着剤となりうる. そこでカルボキシル基とクロロトリアジニル基を併せ持つポリマー A と, アミノ基とジメチルアミノ基を持つポリマー B のそれぞれを ROMP 法により合成し, 接触-接合が実現できることを確認した. これに伴い, 各官能基の導入率についても検証を行い, それぞれに要求される含有量についても検討を行った.

2. 上記の接触-接合をより効率よく行うために各ポリマーを微粒子化する必要があると考え, 既存のトリアジン型ポリマー縮合剤をモデルとして微粒子化の検討を行った. ブレークダウン法 (遊星ボールミルによる粉砕) では, 物理的損傷または摩擦熱による縮合活性の低下が示唆された. 一方, 乳化重合を利用するビルドアップ法においては, 縮合活性部位の加水分解を避けるため一般的な O/W 型の条件が利用できず, 有機溶媒同士の O/O 型エマルションが必須と考えられた. そこでイソプレン-メチルメタクリル酸ブロック共重合ポリマー (PI-b-PMMA) を合成し, その組成比および分子量と乳化剤としての適否, ならびにそれを用いた乳化重合による ROMP 型縮合剤の微粒子化について検討したところ, 粒子径 $\sim 20 \mu\text{m}$ の球状ポリマーを得ることができた.

3. 量子ロッド (Qrod) を蛍光マーカーとして生体内挙動を追跡するためには, 近赤外領域に発光波長を有する Qrod が望ましいが, 幾つかの粒子をひとまとめにして粒径および光量の確保を行う方法に前述のポリマー A が利用できると考え, 既存の CdSe-CdS ロッドを用いて試験を行った. Qrod をコーティングしたシリカ表面に  $\text{NH}_2$  基導入したビーズ ( $\text{NH}_2$ -beads) を水に分散させ, 新たに合成した球状ポリマー A の水懸濁液をゆっくりと添加したところ, 滴加が進むにつれて生じた沈殿から蛍光が観察されるようになり, 最終的には沈殿のみが光るようになった. この沈殿の SEM 観察像からポリマー粒子上への Qrod の付着が示唆された.



## リポポリサッカライドにより惹起される脂肪細胞炎症における

### GPR120/FFAR4 シグナルの関与

○中本賀寿夫<sup>1</sup>, 島田幸季<sup>1</sup>, 原田慎一<sup>1</sup>, 森本泰子<sup>2</sup>, 平澤 明<sup>3</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>

1 神戸学院大薬・臨床薬学, 2 神戸学院大薬・健康支援

3 京都大・薬 薬理ゲノミクス分野

**【背景】**我々はこれまでに、長鎖脂肪酸受容体 GPR120/FFAR4 アゴニストであるドコサヘキサエン酸 (DHA) が超高脂肪コリン欠乏メチオニン低減飼料 (CDAHFD) 誘発非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) モデルマウスの病態進行を抑制することを報告した。この効果は、白色脂肪細胞の GPR120/FFAR4 を介した脂肪組織の炎症および線維化抑制によることが示唆されているが、メカニズムは不明である。そこで本研究は、DHA による NAFLD 抑制作用における白色脂肪細胞 GPR120/FFAR4 の関与について検討を行った。

**【方法】**動物は C57BL/6J (WT) および GPR120/FFAR4 (KO) マウスを使用した。普通食 (MF) または CDAHFD (メチオニン 0.1%、60 Kcal% 脂肪) は 2 週間摂取させた。DHA (97%) エチルエステル体は CDAHFD 摂取 1 週間後から 1 日 1 回 1 週間経口投与した。リポポリサッカライド (LPS, 1,000 ng) は、WT および KO マウスより摘出した白色脂肪細胞へ添加し、1 時間暴露した。炎症および線維化マーカーは、免疫組織染色およびリアルタイム PCR にて解析した。

**【結果】**CDAHFD の 2 週間摂取によって、MF 食と比較して白色脂肪細胞の肥大化、F4/80 陽性細胞の増加および線維化が認められた。さらに、炎症マーカーである F4/80 および IL-6 mRNA の発現増加が認められた。これらの増加は、DHA 投与によって抑制された。WT の白色脂肪細胞は、LPS の添加によって IL-6 および TNF- $\alpha$  mRNA 発現が有意に増加した。この増加は、DHA 添加によって濃度依存的に抑制された。DHA による抗炎症作用は、GPR120/FFAR4 アンタゴニスト AH7614 の前処置によって拮抗された。一方、KO マウス白色脂肪細胞では LPS 添加によって、WT と同様 IL-6 および TNF- $\alpha$  mRNA の発現増加が認められたが、DHA はこれら炎症反応を抑制しなかった。

**【考察】**DHA による NAFLD 進行抑制作用には、白色脂肪細胞の GPR120/FFAR4 シグナルが関与している可能性が示された。

## 脳虚血性神経障害発現に対する視床下部 Foxa2 の関与

○原田慎一, 上野彩歌, 徳山尚吾  
神戸学院大薬・臨床薬学

【目的】 これまでに、我々は脳虚血ストレス負荷後早期の糖代謝異常が、神経ペプチドの一つである orexin-A の視床下部内投与によって抑制されることを明らかにしている。一方、脳虚血ストレス負荷によって、視床下部における orexin-A の発現量が減少していることも確認している。しかしながら、その機序は未だ不明である。Forkhead box a2 (Foxa2) は、forkhead ファミリーに属する転写因子の一つである。Foxa2 は、糖代謝制御に関与し、神経変性疾患の一つであるパーキンソン病の発症に関わる重要な因子であることが報告されている。さらに、orexin-A の発現調節に Foxa2 が関与することも報告されていることから、本研究では、脳虚血ストレス負荷後の神経障害発現に対する Foxa2 の関与を検討した。

【方法】 5 週齢の ddY 系雄性マウスを用い、局所脳虚血モデルは、2 時間の中大脳動脈閉塞法 (MCAO) によって作成した。偽手術 (sham) は、中大脳動脈を閉塞しないものとし、その他は MCAO と同様に行った。Foxa2-アデノ随伴ウイルス (AAV) は、MCAO 7 日前に、視床下部内に局所投与 ( $1.2 \times 10^9$  copies/mouse) した。Foxa2 mRNA または prepro-orexin mRNA の発現変化は real-time PCR 法によって解析した。Foxa2 および orexin-A の共局在性の解析は、二重蛍光免疫染色法を用いた。

【結果】 Foxa2 mRNA または prepro-orexin mRNA の発現は、MCAO 6 時間および 1 日後において、sham 群に比較して、MCAO 群で有意な減少が認められた。さらに、対照群において、Foxa2 と orexin-A は、視床下部外側野において共局在性を示し、Foxa2-AAV を投与することによって、両者の顕著な発現増加が認められた。加えて、MCAO 後の血糖値上昇および梗塞巣形成は、Foxa2-AAV の投与によって抑制された。

【考察】 以上の結果から、視床下部における Foxa2 および orexin-A は、連動した発現変化を示す可能性が示唆された。さらに、脳虚血後の視床下部における Foxa2 は、orexin-A による脳虚血後の糖代謝異常および神経障害発現の抑制機序の一部に関与しているかもしれない。

## ホスピス緩和ケア業務に従事する薬剤師の

### ターミナルケア態度に対する意識調査

○小畑 友紀雄<sup>1</sup>, 森本 泰子<sup>2</sup>, 齋藤 俊子<sup>3</sup>, 尹 美帆<sup>4</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学,<sup>2</sup>神戸学院大薬・衛生化学-健康支援,

<sup>3</sup>洛和会音羽病院 薬剤部,<sup>4</sup>京都鞍馬口医療センター 薬剤科

【目的】近年、ホスピス緩和ケア領域において、医療チームの一員として薬剤師にもそれらに関連する業務への参画が強く求められている。しかしながら、現状において緩和ケア業務に従事する薬剤師はいまだ少ない。一方、薬剤師と比較して、多くの医師や看護師は本領域において積極的に活動している。その理由の一つとして、「死生観」や「ホスピス緩和ケアへの考え方」に差異があると考えられたことから、ターミナルケア態度に対する意識調査を実施した。

【対象および方法】対象は、近畿地区 2 府 4 県に住所登録のある「緩和ケア病棟入院料届出受理施設」45 施設においてホスピス緩和ケア業務に従事する薬剤師 41 名とした。アンケート用紙は郵送で送付し、回収および解析を行った（回収率 71.1%）。調査には、“死にゆく患者に対する医療者のケア態度を測定する尺度日本語版「FATCOD-B-J」”を用いた。また、同時に対象者の基礎情報（性別、年齢層、勤務年数、ホスピス緩和ケアへの関係年数、勤務形態など）を収集した。

【結果】ホスピス緩和ケアに従事する薬剤師の FATCOD-B-J スコアは、業務にかかわる期間が長く、業務形態が専任であり、本領域に関する情報の収集が十分行える環境である場合高いことが示された。

また、今回の FATCOD B-J の合計スコアは、先行研究で示されていたターミナルケアの経験を持つ一般病棟勤務看護師、ターミナル期のケアに関わる看護師、訪問看護において高齢者ケアにかかわる看護師、および慢性期病棟勤務の看護師を対象とした調査とほぼ同様の結果であった。

【考察および結論】ホスピス緩和ケア業務にかかわる期間が長く、業務形態が専任であり、本領域に関する情報の収集が十分行える環境である場合に、緩和ケアに対する関心・積極性が高まることが示唆された。また、ホスピス緩和ケアに従事する薬剤師数は少ないものの、実際に従事している薬剤師は、看護師とほぼ同程度のケアへの前向きさをもっていることが明らかとなった。

小畑、徳山ら, 日本緩和医療薬学雑誌 9:107-114,2016

## 脳虚血ストレス負荷後の脳内 sodium-glucose transporter type 1 の発現誘導に対する mitogen-activated protein kinases の関与

○山崎由衣、原田慎一、徳山尚吾  
神戸学院大薬・臨床薬学

【目的】 これまでに我々は、脳虚血ストレス負荷後の高血糖状態が脳内 sodium-glucose transporter type 1 (SGLT-1) を介して神経障害発現を増悪することを報告してきた。さらに、SGLT-1 は脳虚血ストレス負荷後に有意に増加することを明らかとしているが、その増加機序は不明であった。末梢において、mitogen-activated protein kinase 経路である c-Jun N-terminal kinase (JNK) ならびに p38、extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) が SGLT-1 の発現誘導に関与することが報告されている。また、MAPK は脳虚血ストレスによって活性化されることが知られており、MAPK 経路が脳虚血ストレス負荷後の脳内 SGLT-1 発現誘導に関与すると考え、以下の検討を行った。

【方法】 一過性局所脳虚血モデルマウスは 5 週齢の ddY 系雄性マウスに中大脳動脈閉塞 (middle cerebral artery occlusion: MCAO, 2 hr) を施し作成した。その 1 日後に空腹時血糖値変化を評価した。梗塞巣形成および行動異常の評価は MCAO 1 または 3 日後に行った。タンパク質発現は western blot 法を用いて評価した。JNK、p38 および ERK の活性はリン酸化率を算出することで評価した。JNK、p38 ならびに ERK 阻害剤である SP600125、SB203580 ならびに PD98059 は再灌流直後に脳室内投与した。【結果】 JNK は MCAO 1 および 3 時間後に、p38 は MCAO 3 および 5 時間後に有意に活性化された。ERK のリン酸化率は MCAO 3 時間後に有意に上昇し、5 時間後に有意に減少した。MCAO 3 時間後における、JNK、p38 および ERK の有意な活性化は、SP600125、SB203580 ならびに PD98059 投与によってそれぞれ有意に抑制された。大脳皮質の SGLT-1 発現は MCAO 12 時間後に有意に上昇し、この上昇は、SP600125 ならびに SB203580 投与によって有意に抑制されたが、PD98059 投与では変化しなかった。

【考察】 以上の結果から、脳虚血ストレス負荷後の JNK および p38 の活性化が脳内 SGLT-1 の発現を誘導する可能性が示された。しかしながら、ERK 活性は脳虚血ストレス負荷後の SGLT-1 の発現誘導機序には関与しないと考えられた。

## 脳虚血後の肝臓におけるインスリンシグナル系の変化に対する

### 視床下部 orexin-A の影響

○野崎裕大, 原田慎一, 徳山尚吾  
神戸学院大薬・臨床薬学研究室

【目的】我々はこれまでに、神経ペプチドの一つである orexin-A (OXA) を視床下部内に局所投与することによって、迷走神経の活性化を介して肝臓における insulin シグナル系を賦活化させ、脳虚血性耐糖能異常を是正し、それに伴って神経障害の発現を抑制する知見を得た。近年、脳虚血後の糖代謝異常に対し、肝臓における炎症性サイトカインの増加が関与することが報告された。そこで、本研究では、脳虚血後の糖代謝異常および肝臓における炎症性サイトカインの増加に対する orexin-A の関与について、迷走神経系に着目し検討した。

【方法】5 週齢の ddY 系雄性マウスを用い、局所脳虚血モデルは、2 時間の中大脳動脈閉塞法 (MCAO)、vagotomy モデルは、肝臓枝迷走神経を切除することによって作成した。OXA (5 pmol/mouse) は、MCAO 直後に単回視床下部内局所投与した。神経障害の発現は、梗塞巣形成ならびに行動異常を評価した。MCAO 後の血糖値変化として空腹時血糖値 (FBG) を測定し、各種 mRNA およびタンパク質の発現変化は、qRT-PCR または、western blot 法によって解析した。

【結果】OXA は、MCAO 1 日後の FBG の上昇および、MCAO 3 日後の梗塞巣形成ならびに行動異常の発現を有意に抑制した。さらに、MCAO 1 日後における炎症性サイトカインの一つである tumor necrosis factor (TNF)  $-\alpha$  ならびに interleukin- $1\beta$  の有意な発現上昇、TNF- $\alpha$  受容体の下流シグナル因子の一つである JNK の活性化や insulin receptor substrate のチロシンリン酸化の抑制およびセリンリン酸化の増加も、orexin-A によって有意に抑制された。これらの作用は、vagotomy によって消失した。

【考察】以上の結果から、視床下部の orexin-A は迷走神経の活性化を介して肝臓における炎症性サイトカインの増加を抑制し、それが脳虚血後の糖代謝異常の抑制に一部関与している可能性が示唆された。

## 脳卒中後疼痛に対する high mobility group box-1/

### toll-like receptor 4 シグナル系の関与

○松浦渉<sup>1</sup>、原田慎一<sup>1</sup>、劉克約<sup>2</sup>、西堀正洋<sup>2</sup>、徳山尚吾<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学 <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学

【背景】脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain: CPSP) は脳卒中後に生じる難治性の合併症として知られている。しかしながら、現行の治療法を用いても CPSP を根治させることが困難であるため、有効な治療戦略の開発が急務である。最近、核内 DNA タンパク質である high mobility group box-1 (HMGB1) が神経障害性疼痛の発症に関わる因子であることが報告されてきている。そこで我々は、CPSP の発症機序に対する HMGB1 の関与について検討した。

【方法】5 週齢の ddY 系雄性マウスを用いて、全脳虚血モデル (bilateral carotid artery occlusion: B CAO) を作製した。脊髄における HMGB1 と神経細胞、グリア細胞との共局在性は免疫染色法を用いて検討した。また、B CAO 3 日後のマウスの後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数の変化を von Frey test を用い、TLR4 阻害剤 (5, 10 µg/mouse) の脊髄腔内投与または、抗 HMGB1 抗体 (100 µg/mouse) 静脈内投与後、疼痛評価を行った。さらに、TLR4 の発現変化を western blot 法を用いて解析した。抗 HMGB1 抗体 (100 µg/mouse) 静脈内投与または、TLR4 阻害剤 (10 µg/mouse) 脊髄腔内投与後のグリア細胞の変化は、免疫染色法を用いて検討した。

【結果】脊髄において、HMGB1 は神経細胞およびグリア細胞に局在した。B CAO 3 日後における有意な逃避行動回数の増加は、TLR4 阻害剤 (5, 10 µg/mouse) の脊髄腔内投与または抗 HMGB1 抗体 (100 µg/mouse) の静脈内投与によって有意に減少した。一方、B CAO 後の脊髄において、TLR4 の発現変化は認められなかった。B CAO 後に脊髄グリア細胞の活性化が認められたものの、抗 HMGB1 抗体 (100 µg/mouse) 静脈内投与によってミクログリアは抑制され、アストロサイトに影響は見られなかった。さらに、TLR4 阻害剤 (10 µg/mice) 脊髄腔内投与によってミクログリアは抑制された。

【考察】脊髄の HMGB1 によって活性化されるミクログリアと TLR4 シグナルの連動が、CPSP の発症機序の一部に関与していることが示唆された。

## 脳卒中後疼痛モデルにおける脊髄および坐骨神経に対する

### プロテオーム解析

○景山絵理香<sup>1</sup>、松浦渉<sup>1</sup>、原田慎一<sup>1</sup>、鷹野正興<sup>2</sup>、徳山尚吾<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学 <sup>2</sup>神戸学院大薬・分子細胞生物学

【背景】脳卒中後の難治性の後遺症として知られている脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain: CPSP) は、既存の薬物療法や外科的療法に対して奏効しない場合が多いことから、疼痛の寛解が困難な疾患である。現状において疼痛発症機序は解明されておらず、新規治療法の確立が望まれている。そこで、我々は CPSP の機序解明を目的に、疼痛に関わる脊髄および坐骨神経においてプロテオーム解析を行い、関連因子の同定を行った。

【方法】5 週齢の ddY 系雄性マウスを用い、CPSP モデルは 30 分の両側総頸動脈閉塞法 (bilateral carotid arteries occlusion: BCAA) によって作製した。BCAA 1 日後にマウス後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数の変化を von Frey test を用いて行った。BCAA 1 日後における各タンパク質の発現変化は western blot 法によって解析した。さらに、BCAA 1 日後に PD404182 (50, 100  $\mu$ g/mouse: DDAH1 阻害剤) を脊髄腔内投与し、疼痛評価を行った。

【結果】BCAA 1 日後において、有意な逃避行動回数の上昇が確認された。さらに、プロテオーム解析の結果、脊髄において 10 因子、坐骨神経において 7 因子に変化が認められた。その中で疼痛に関与する可能性のある 4 つの因子に着目し、各タンパク質の発現変化を western blot 法にて解析した。BCAA 1 日後の脊髄において、sham 群と比較して dihydropyrimidinase-related protein 2 の発現減少、N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 (DDAH1) の発現上昇が確認された。坐骨神経においては、dihydropyrimidinase-related protein 4 の発現減少、myosin regulatory light chain 2 の発現上昇を確認した。これらの結果は、プロテオーム解析と同様の結果を示した。さらに、BCAA 1 日後における逃避行動回数の増加は、PD404182 の脊髄腔内投与によって抑制された。

【考察】CPSP の発現の一部に関与する可能性のある 4 つの因子の同定に成功した。さらに、DDAH1 は、nitric oxide synthetase (NOS) の産生を誘導することが報告されている。また NOS は、神経障害性疼痛の増悪に関与することが見出されている。以上の結果から、CPSP の発現の一部に、脊髄における DDAH1 シグナルの変動が関与している可能性が考えられた。

## 全脳虚血誘導性機械的アロディニアに対する orexin-A の影響

○増田風香、松浦渉、原田慎一、徳山尚吾  
神戸学院大薬・臨床薬学

【背景】神経障害性疼痛の一つである脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain: CPSP) は、脳卒中後の難治性合併症として知られている。現状において有効な治療法がほとんど無く、治療戦略の開発が求められている。近年、摂食や睡眠に関係した機能を有している神経ペプチドのオレキシン orexin-A が、痛みの制御に関わっていることが報告されてきている。そこで我々は、全脳虚血モデルマウスを用いて、CPSP に対する orexin-A の関与について検討した。

【方法】5 週齢の ddY 系雄性マウスを用いて、全脳虚血モデル (bilateral carotid artery occlusion: BCAO) を作製した。BCAO 3 日後のマウスの後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数の変化を von Frey test を用い、orexin-A (50, 150 pmol/mouse) の脳室内または脊髄腔内投与後、疼痛評価を行った。また、疼痛制御に関わる中脳、延髄、または、脊髄において orexin-A が強く作用する orexin-1 受容体の発現変化を western blot 法を用いて解析した。さらに、orexin-1 受容体のアンタゴニストである SB334867 (1.5 nmol/mouse) を orexin-A を脳室内または脊髄腔内投与する 30 分前に脳室内または脊髄腔内投与し、疼痛評価を行った。

【結果】BCAO 3 日後の後肢において認められた機械的刺激に対する機械的アロディニアは、orexin-A (50, 150 pmol/mouse) の脳室内または脊髄腔内投与によって有意に抑制された。BCAO 3 日後において、中脳、延髄または脊髄における orexin-1 受容体の発現変化は認められなかった。さらに、orexin-A の脳室内または脊髄腔内投与によって認められていた鎮痛効果は、SB334867 (1.5 nmol/mouse) によって拮抗された。

【考察】脳卒中後疼痛の発現制御の一部に、脳および脊髄における orexin-A を介した疼痛制御機構が関与することが示唆された。

## 幼少期ストレス負荷による神経障害性疼痛増悪後の

### ドパミンシグナルの関与

○藤本貴士<sup>1</sup>, 山下琢矢<sup>2</sup>, 中本賀寿夫<sup>1</sup>, 下條正仁<sup>3</sup>, 糟谷史代<sup>2</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>

1 神戸学院大薬・臨床薬学, 2 神戸学院大薬・毒性学, 3 大阪大・薬・生物有機化学

**【背景・目的】**幼少期における虐待や育児放棄といったストレスは、成熟後に慢性疼痛を発症する要因となることが知られているが、そのメカニズムについては不明である。我々はこれまでに、母子分離・隔離飼育（MSSI）ストレスを負荷したマウスにおいて、情動機能障害や疼痛行動を増悪させることを明らかにしてきた。近年、慢性疼痛の病態機構にドパミン（DA）神経伝達異常が認められることが報告されている。そこで本研究では、疼痛増悪のメカニズムにおける DA シグナルの関与を明らかにするため、MSSI モデルマウスの前頭前皮質（mPFC）におけるドパミンとドパミン受容体の変化について検討を加えた。

**【方法】**動物は、ddY 系のマウスを使用した。幼少期ストレスとして、母子分離と隔離飼育ストレスを組み合わせたモデルを用いた。生後 2 週目から 3 週目の間に、1 日 6 時間仔マウスを別々のケージに移し母子分離を行い、生後 3 週目以降は単独で飼育した。不安様行動の評価には、高架式十字迷路試験（EPM）を使用した。神経障害性疼痛モデルは坐骨神経を1/3～1/2部分結紮（PSL）することで作製した。疼痛行動の評価には von Frey 試験を用いた。mPFC におけるドパミン及びドパミン受容体の変化は、それぞれ液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）、リアルタイムPCR（RT-PCR）を用いて解析した。

**【結果】**生後 9 週目において、PSL 処置によって痛みを惹起させたところ、ストレス負荷群は対照群と比べて、雄性・雌性マウスともに機械的刺激に対する反応性の有意な亢進が認められた。雌性マウスの mPFC では、コントロール群と比較してストレス負荷後の PSL 処置によりドパミンとドパミン代謝物（DOPAC）に減少傾向が見られ、ドパミン受容体 DRD2 には増加傾向が見られた。一方、雄性マウスの mPFC では、ストレス負荷後の PSL 処置によりコントロール群と比較して DOPAC に減少傾向が見られ、ドパミン受容体 DRD1、DRD2 に増加傾向が見られた。以上の結果から、MSSI ストレスにより惹起される成熟期における神経障害性疼痛の増悪機構には、前頭前皮質のドパミンシグナル機構の破綻が一部関与している可能性が示された。さらに、それらの変化には性差が認められた。

**【参考文献】** Nishinaka, Tokuyama et al., Eur J Pain, 20(8):1346-56, 2016

## 慢性疼痛の形成時における脳内長鎖脂肪酸 GPR40/FFAR1 の役割

○丸尾恵里佳<sup>1</sup>, 相澤風花<sup>1</sup>, 大垣圭弘<sup>1</sup>, 山下琢矢<sup>2</sup>, 中本賀寿夫<sup>1</sup>,  
平澤 明<sup>2</sup>, 栗原 崇<sup>3</sup>, 糟谷史代<sup>2</sup>, 宮田篤郎<sup>3</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>

1 神戸学院大薬・臨床薬学, 2 神戸学院大薬・毒性学,  
3 京都大・院・薬・薬理ゲノミクス, 4 鹿児島大・医歯学総合 生体情報薬理

【背景】我々は、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの長鎖脂肪酸によって活性化される長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1が、内因性の疼痛制御機構に関与していることを報告している。しかしながら、これらシグナル機構の欠損が、疼痛行動に与える影響については明らかにされていない。そこで本研究では、GPR40/FFAR1 欠損マウスを用いて各種疼痛モデルマウスを作製し、GPR40/FFAR1 シグナル欠損が疼痛行動に与える影響について検討した。

【方法】動物は、7 週齢の ddY 系雄性マウス、8-10 週齢の C57BL6J (WT) および GPR40/FFAR1 KO (KO) マウスを使用した。術後痛モデルは Brenann らの方法を用いて作製した。疼痛の評価には、tail flick、ホルマリン試験、von Frey 試験および plantar 試験を用いた。GPR40/FFAR1 アンタゴニストの GW1100 (10 µg) は 1 日 1 回 5 日間脳室内へ反復投与した。蛋白質の発現変化は、ウェスタンブロット法または免疫組織染色によって確認した。mRNA 発現はリアルタイム PCR 法によって解析した。脳内遊離脂肪酸は LC-MS/MS により解析した。

【結果】術後痛マウスは、術後 1 日目から機械的アロディニアが認められ、3 日間持続した後、4 日目には sham レベルまで消失した。GW1100 の反復処置は、sham 群と比較して、術後 6 日目まで増悪した。視床下部におけるパルミチン酸、オレイン酸およびドコサヘキサエン酸は、術後 2 日目に増加した。同様に、KO マウスにおいても術後 1 日目より機械的アロディニアが認められ、これは 7 日目まで持続した。一方、非疼痛刺激下においては、各種疼痛刺激に対して WT と KO マウス間の差異は認められなかった。

以上、GPR40/FFAR1 シグナルの欠損は、疼痛刺激を増悪させることから、痛み慢性化にこれらシグナル機構が関係していることが示唆される。

## 長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 の欠損は、脳内ノルアドレナリン の増加を引き起こし、異常行動を示す

○今西朝美<sup>1</sup>, 相澤風花<sup>1</sup>, 大垣圭弘<sup>1</sup>, 山下琢矢<sup>2</sup>, 中本賀寿夫<sup>1</sup>,  
平澤 明<sup>2</sup>, 栗原 崇<sup>3</sup>, 宮田篤郎<sup>3</sup>, 糟谷史代<sup>2</sup>, 徳山尚吾<sup>1</sup>

1 神戸学院大薬・臨床薬学, 2 神戸学院大薬・毒性学, 3 京都大・院・薬・薬  
理ゲノミクス, 4 鹿児島大・医歯学総合・生体情報薬理

【背景】うつ病や統合失調症などの精神疾患の病態形成機構には、脳内の脂肪酸組成変化やこれらを介したシグナル伝達機構の破綻が密接に関係しているとされている。さらに、多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の摂取が、産後うつ病などの精神疾患の緩和やその発症率を低下させる可能性が示されている。しかしながら、これらのメカニズムについては不明である。近年、G-蛋白質共役型受容体の一つで、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの PUFA によって活性化される長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 が同定された。これら受容体は脳に豊富に存在しているが、その役割は不明な点が多い。そこで、本研究においては、GPR40/FFAR1 欠損マウスを使用し、PUFA-GPR40/FFAR1 シグナルが情動や母性行動に与える影響について検討を行った。

【方法】動物は 8-10 週齢の雌雄の C57BL6J (WT) および GPR40/FFAR1 欠損マウス (KO) を使用した。情動行動の評価には、オープンフィールド、高架式十字迷路、新規環境下摂食抑制試験、社会性行動試験およびスクロース嗜好性試験を行った。母性行動の評価には、出産から離乳までの期間における育児放棄や喰殺などの飼育状況を詳細に観察した。

【結果】高架式十字迷路試験において、KO マウスではオープンアームの滞在時間および侵入回数が WT と比較して有意に増加した。社会性行動試験では、KO マウスはターゲットマウスの存在の有無に関わらず、インターアクション領域への滞在時間が低下した。その他の行動は、両群間に顕著な変化は認められなかった。一方、KO マウスでは育児放棄および喰殺行動の個体数が WT と比較して上昇した。

以上の成績から、脳内の脂肪酸-GPR40/FFAR1 シグナル機構の破綻が、情動行動と関連することが明らかとなった。また、母性行動にも本シグナル機構が関与している可能性が示された。

## 明細胞肉腫（CCS）に対するホウ素中性子捕捉療法： CCSにおけるLAT1発現とそのL-BPA取込への関与

○和田 恵二郎<sup>1</sup>, 安藤 徹<sup>1</sup>, 藤本卓也<sup>2</sup>, 須藤 保<sup>3</sup>, 盛武 浩<sup>4</sup>, 福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室, <sup>2</sup>兵庫県立がんセンター 整形外科,

<sup>3</sup>兵庫県立がんセンター 研究部, <sup>4</sup>宮崎大学 医学部 小児科

【目的】演者らは、手術以外に有効な治療方法が無い悪性軟部腫瘍である明細胞肉腫(CCS)に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の適応を目指して、*p*-borono-L-phenylalanine (L-BPA) の腫瘍集積メカニズムの解析を進めている。がん細胞に対する選択的かつ高濃度なL-BPA集積の要因としてL型アミノ酸トランスポーター1 (LAT1) の関与が示されている<sup>1)</sup>が、CCSにおけるLAT1の関与については明らかになっていない。そこで本研究では、CCS細胞株におけるLAT1発現とそのL-BPAの細胞内取込について検討した。

【方法】細胞株として、ヒト由来 CCS 細胞株 (HS-MM, KAS, MP-CCS-SY, SU-CCS-1), そして、LAT1 を発現するヒト由来乳癌細胞株 (MCF-7) と悪性黒色腫細胞株 (G-361) の計6種を使用した。まずウエスタンブロット法とリアルタイムPCR法にてLAT1の発現および発現量を評価した。次に各CCS細胞株(1×10<sup>7</sup>個/匹)をヌードマウスの左大腿部に皮下移植し担がん動物モデルを作製した。移植4週後に安楽死させた後で10 mm径の腫瘍を摘出した。腫瘍を10%リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定し、パラフィン包埋後に薄切標本を作成した。この薄切標本について、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色による組織学的評価、ならびにLAT1抗体、CD98抗体を用いて免疫組織化学を行った。さらにLAT1阻害薬である2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid (BCH) を用いて次の試験を行った。6種の細胞株を培養皿に播種し、72時間培養後8 mMのBCHを添加し10分間培養した。その後30 μg<sup>10</sup>B/mLのL-BPA含有培地を4時間暴露させ、細胞内<sup>10</sup>B量をICP-AES法により測定した。

【結果・考察】ウエスタンブロッティング法とリアルタイムPCR法から、6種の細胞株間においてLAT1の発現とその発現量に違いがあることを確認した。またL-BPAの取込量からBCH添加後のL-BPA取込量を減じて、L-BPAの取込量で除したBCHによるL-BPA取込阻害効率はLAT-1陽性のMCF-7で54.2%、G-361で32.7%となり、CCSではMP-CCS-SYで55.6%とMCF-7と同等に高く、KAS、SU-CCS-1は約40%とやや高値を示し、最も低値を示したHS-MMでも31.6%とG-361と同等の阻害効果を認めた。LAT1の発現が大きい細胞株ではBCHの阻害効率が大きいことから、LAT1発現量の違いがL-BPAの細胞内取込に影響していると考えられる。さらにCCS担がん動物の組織標本における免疫組織学的検査から、LAT1は全てのCCS細胞株担がん動物において、腫瘍組織全体で強い発現を認めた。またLAT1の機能に関与するCD98に関しても同様に強い発現を認めた。以上の検討を踏まえると、CCSにおいて*in vitro*同様に*in vivo*においてもL-BPAの取込にLAT1が影響しうると考えられる。今後、CCS皮下担がん動物に対してBCHおよびBPA-Frを投与した際の<sup>10</sup>Bの体内動態を評価し、*in vivo*におけるLAT1の関与を明らかにしたい。

【参考文献】1) Wongthai P. et al, *Cancer Sci.*, 106, 279-286 (2015).

## ヒト由来乳癌細胞株を用いた骨転移に対する ホウ素中性子捕捉療法の前臨床研究

○安藤 徹<sup>1</sup>, 佐谷諒一<sup>1</sup>, 中野将司<sup>1</sup>, 藤本卓也<sup>2</sup>, 須藤 保<sup>3</sup>, 福森義信<sup>1</sup>, 市川秀喜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸学院大学 薬学部 製剤学研究室

<sup>3</sup>兵庫県立がんセンター 研究部

<sup>2</sup>兵庫県立がんセンター 整形外科

【目的】ホウ素中性子捕捉療法 (Boron neutron capture therapy, BNCT) は、それ自体では放射活性を持たないホウ素 ( $^{10}\text{B}$ ) を腫瘍内に蓄積させ、病巣部に熱中性子を照射し  $^{10}\text{B}$  との核反応により生じた  $\alpha$  線や  $^7\text{Li}$  が  $^{10}\text{B}$  を取り込んだ細胞を選択的に死滅させることが可能ながん放射線療法の一つである。これまで演者らの研究グループでは外科的処置以外に確立された治療法のない明細胞肉腫 (CCS) をターゲットとして、臨床研究への応用を目指した前臨床研究を行ってきた。本研究では、同研究グループがこれまでに経験した、乳癌の骨転移をきたした患者で BNCT が転移部 (腋窩リンパ節) の制御に顕著な効果を示すこと<sup>1)</sup>を参考に、整形外科領域で最も多い悪性骨腫瘍である骨転移に対して、BNCT が QOL 改善を伴う新たな治療法になりうるかを検討する。癌種には臨床現場で骨転移を多く認める乳癌を選択し、動態試験に向けてヒト由来の乳癌細胞株を用いて骨転移動物モデルの作成を検討した。

【実験】骨転移モデルは、ヒト由来の乳がん細胞株である MDA-MB-231 細胞株にルシフェラーゼ遺伝子を導入した MDA-MB-231-luc を用いた。in vitro 試験では培地に  $^{10}\text{B}$  の濃度が 10, 20, 30 ppm になるように BPA-Fr を添加し、2 時間暴露させた後、細胞を回収し灰化処理を行った。その後 ICP-AES によって  $^{10}\text{B}$  濃度を測定した。骨転移モデルの作成では、Campbell らの作成方法<sup>2)</sup>を参考にモデルを作成した。2.5 × 10<sup>5</sup> 個の MDA-MB-231-luc を 6 週齢の雌ヌードマウスの左脛骨髓腔内注入し、2 週間後にルシフェリンを腹腔内投与 (150 mg/kg) した。そして、生体イメージング装置 (IVIS Imaging System) を用いて測定波長 640 nm による発光イメージングと同時に X 線撮影を行い骨転移モデルの確認を行った。腫瘍形成が得られた移植 8 週後に、BPA-Fr を大腿静脈投与し 1 時間後、血液、正常組織および腫瘍を採取し、それらのホウ素濃度を ICP-AES 法によって測定した。

【結果・考察】BPA-Fr 取込試験では 10, 20, 30 ppm の範囲内の MDA-MB-231-luc の取込濃度は 9.9, 14.3, 20.1 ppm と我々が既に検討した CCS と比較してやや取込量は低い濃度依存的な BPA-Fr の取り込みが示された。これらは CCS と同様に BNCT の適応が期待できる結果といえる。また、骨転移モデルの作成では、発光イメージングにて移植部位の発光がマウス全例 (6 匹中 6 匹) で確認され、脛骨内での腫瘍の形成が示唆された。その後 1 週間ごとに発光イメージングおよび X 線撮影にて腫瘍形成部の経時的変化を確認したところ、移植後 5 週間で X 線撮影にて骨透亮像が観察された。これは、発光イメージングにおいて同部位に発光強度および発光面積の増大を認めたことから、乳癌の浸潤・増大に伴う骨破壊像と考える。また、本骨転移モデルを用いたホウ素の腫瘍内試験では、BPA-Fr 投与 1 時間後の腫瘍内濃度は 20.0 ppm と細胞同様にやや低い濃度が BNCT の適応が期待できる結果であった。今後、本モデルを用いて乳癌の骨転移に対する BNCT 適応について引き続き検討を行う。

【参考文献】1) Fujimoto T. et al., *KURRI Prog. Rep.*, PR8-2 (2015).

2) Campbell J.P. et al., *J. Vis. Exp.*, 4(67), e4260 (2012).