

## 医用エンジニアリング研究室

教授：古幡 博 分子医工学，超音波医学  
准教授：金本 光一 医工学  
准教授：横山 昌幸 DDS，バイオマテリアル

### 教育・研究概要

#### I. スーパー特区研究課題（急性脳梗塞治療特区略称）

##### 1. 経頭蓋超音波血栓溶解療法の研究（JST プロジェクト）

##### 1) 高週齢 SHR/SP における経頭蓋超音波照射の安全性

高血圧自然発症脳卒中易発症ラット（SHR/SP）に中波数約 500kHz の超音波を臨床適用最大出力条件で経頭蓋照射した場合の出血率の加齢変化を調査した。少なくとも脳卒中発症率の 80%を超える 20 週齢以上においても血栓溶解剤固有の出血率以上の出血率の上昇を認めなかった。これにより，高齢高血圧患者に対する開発システムの安全性がある程度担保された。

##### 2) SHR 急性脳梗塞における中周波超音波照射の安全性

高血圧自然発症ラットでの急性脳梗塞発症においても血栓溶解剤固有の出血率以上の出血率を上記項目 1) と同条件の経頭蓋照射法によっても招来せず，臨床適用時の安全性が一層担保された。これらにより，開発中の経頭蓋超音波脳血栓溶解装置の臨床適用の可能性が著しく向上した。

##### 3) 臨床試験のための比較臨床データの集積

開発装置の臨床試験開始に先行し，適用疾患に対する超音波診断基準の検討，プローブ固定法の検討，及び血栓溶解剤静注療法中の再開通血流状態のデータ蓄積を行った。これらにより，治験実施の体制手技および臨床評価に関する基礎データを整えた。[神経病理・病理・神内・日立メ・日立中研との共同研究]

#### 2. 小動物用高磁場 MRI の設置

1) 9.4T の横型 MRI を本学 1 号館実験動物施設内に設置し，今後のスーパー特区研究課題の発展研究に起用するものとした。

2) ラット脳梗塞モデルにおける梗塞時，または再開通時における血管からの物質（高分子）の透過性を 9.4T 横型 MRI を用いて評価するために高分子 MRI 造影剤の作製を行った。今後，本診断薬を用いて脳梗塞時，及び再開通後の血管透過性の評価を行っていく予定である。

#### II. 超音波 Drug Delivery System の研究（NEDO 事業）

深部癌治療を目標とし，相変化ナノ液滴を用いた超音波診断・治療統合化システムの研究開発において，本システムによるラット正常肝組織傷害の重症度分類法（可逆変化：grade I～不可逆変化：grade IV）を提示し，これを基にすれば，マウス皮下腫瘍治療効果が担保された条件はラット正常肝に対して安全（grade I 以下）であることが示唆された。[病理・日立中研・東北大・KAST・京都大・東京農工大との共同研究]

#### III. 腫瘍内超音波 nitric oxide (NO) 産生の研究

腫瘍内 NO 濃度が 500kHz 超音波刺激によって数  $\mu\text{M}$  上昇することを実時間的に確認した。NO は腫瘍増殖に関与することが知られており，超音波 NO 産生が腫瘍成長に与える影響を検討中である。

#### IV. 高分子ミセルキャリアーの免疫原性制御のためのインターフェース設計【新学術領域研究：ソフトインターフェースの分子科学】

薬物ターゲティングの領域（DDS）でポリエチレングリコール化リポソーム（PEG-リポソーム）の 2 回目投与以降に血中からの急速な排出と肝臓への移行を示す ABC 現象（Accelerated blood clearance phenomenon）が報告されている。この興味深く，かつ医療応用では重要な現象と考えられる ABC 現象は，初回投与した PEG-リポソームによって誘起される抗 PEG IgM 抗体が関与する免疫現象と提唱されている。

本研究において PEG 化ナノ粒子であり，親水性相互作用から形成される高分子ミセル MRI 造影剤は ABC 現象を誘起しないということを見出した。MRI 造影剤として本高分子ミセル MRI 造影剤は ABC 現象への関与が認められなかった。本結果は作製した MRI 造影剤が，その診断薬として投与された場合に免疫反応を誘起せず，治療への影響が少ないということを意味している。この結果を基にすれば，本 MRI 造影剤が PEG 特有の免疫現象である ABC 現象を回避して使用できることが示唆された。

#### V. 高分子ミセルの薬物・造影剤封入内核の構造解析【CREST：ナノ界面技術の基盤構築/DDS 粒子のナノ界面と鳥インフルエンザワクチン等への応用】

次世代の医薬品開発の要となる DDS ナノ粒子である抗がん剤内包高分子ミセルの溶液中での構造と

その薬理効果に関して、世界で最も輝度が高い放射光 X 線を用いた測定によって疎水性鎖と薬物の影響を検討し、その内核構造を明らかにした。薬物としてレチノイン酸受容体のアンタゴニストである合成レチノイド LE540 が内封された高分子ミセルは直径 20–30nm である均一なサンプルとして調整された。放射光 X 線を用いた測定の結果、これまで観測することができなかった高分子ミセルのコア内部における薬物分布を観測した。薬物が高分子ミセル内核へ内封された際に起こる結晶–非晶性の変化が、薬物の封入安定性に影響を与えていることが示唆された。

#### 「点検・評価」

研究主体の 13 人体制(訪問研究員, 見学生を含む)に加えて 4 月より准教授が新たにもう 1 名着任し、これまでの医用エンジニアリング研究室における「超音波脳血栓溶解」に加えて、「ナノ製剤を用いた DDS」という大きな 2 本柱が研究課題として展開され、充実した陣容となった。また、学内外との共同研究を多く展開した。研究資金は NEDO, 厚生労働省科研費, 文部科学省科学研究費などを中心にして運営を行った。本年度, 主要論文は 10 報であるが, 今年度の実験成果を踏まえ次年度に論文件数が増えていくものと思われる。

前年度より行ってきた経頭蓋超音波脳血栓溶解法の実用化開発は、日本科学技術振興機構 (JST) で展開される事業のもと、日立メディコ㈱を中心に本格始動し、臨床用 1 号機の製造・基礎的研究を行った。

前年度に引き続き先端医療開発特区 (スーパー特区) の課題として「急性脳梗塞早期系統的治療のための分野横断的診断治療統合化低侵襲システム (略称: 急性脳梗塞治療特区)」の研究をスタートし、研究運営会議の開催、急性脳梗塞特区通信発行を行っている。9.4T 横型 MRI が 1 号館地下 1 階動物実験施設内に設置・稼働準備が完了し、いよいよ本格的に稼働し始める。また、慈恵大スーパー特区共同利用実験施設が開設され、各種実験・測定装置が稼働し始めている。本スーパー特区における環境調整も進み、多方面からの横断的な研究の展開も順調に進み始めている。

新たに始まったナノ製剤を用いた DDS 研究においては、診断と治療をつなげるためのキャリアシステムの開発を行うとともに、ナノ製剤の免疫原生制御に関する研究や、世界で最も輝度が高い放射光 X 線を用いた小角 X 線散乱法 (SAXS) によるナノ界

面の構造解析を行っている。

教育面では研究室配属として 1 名の学生を受け入れ、ナノ製剤を用いた DDS に関する実験を行った。また、本学 1 号館 3 階講堂で開催した「第 4 回低侵襲医療機器実現化フォーラム」では「乳がんに対する画像ナビゲーション治療技術」というテーマのもと多数の参加者とともに有意義な討論の場を持つことができた。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Hori K (Tohoku Univ), Nishihara M (KAST), Yokoyama M. Vital microscopic analysis of polymeric micelle extravasation from tumor vessels: macromolecular delivery according to tumor vascular growth stage. *J Pharm Sci* 2010; 99(1): 549–62.
- 2) Minowa T<sup>1)</sup>, Kawano K<sup>1)</sup>, Kuribayashi H (Varian Technologies Japan Ltd.), Shiraishi K (KAST), Sugino T (Fukushima Med Univ), Hattori Y<sup>1)</sup>, Yokoyama M, Maitani Y<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Hoshi Univ). Increase in tumour permeability following TGF- $\beta$  type I receptor inhibitor treatment observed by dynamic contrast-enhanced MRI. *Br J Cancer* 2009; 101(11): 1884–90.
- 3) Huili M<sup>1)</sup>, Shiraishi K (KAST), Minowa T<sup>1)</sup>, Kawano K<sup>1)</sup>, Yokoyama M, Hattori Y<sup>1)</sup>, Maitani Y<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Hoshi Univ). Accelerated blood clearance was not induced for a gadolinium-containing PEG-poly (L-lysine)-based polymeric micelle in mice. *Pharm Res* 2009; 27(2): 296–302.
- 4) Kawaguchi T<sup>1)</sup>, Honda T<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Fukushima Med Univ), Nishihara M<sup>2)</sup>, Yamamoto T<sup>2)</sup> (<sup>2</sup>KAST), Yokoyama M. Histological study on side effects and tumor targeting of a block copolymer micelle on rats. *J Control Release* 2009; 136(3): 240–6.
- 5) Satoh T (KAST), Higuchi Y<sup>1)</sup>, Kawakami S<sup>1)</sup>, Hashida M<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Kyoto Univ), Kagechika H (Tokyo Medical and Dental Univ), Shudo K (Itsuu Lab), Yokoyama M. Encapsulation of the synthetic retinoids Am80 and LE540 into polymeric micelles and the retinoids' release control. *J Control Release* 2009; 136(3): 187–95.
- 6) Okuda T<sup>1)</sup>, Kawakami S<sup>1)</sup>, Higuchi Y<sup>1)</sup>, Satoh T<sup>2)</sup>, Oka Y<sup>2)</sup> (<sup>2</sup>KAST), Yokoyama M, Yamashita F<sup>1)</sup>, Hashida M<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Kyoto Univ). Enhanced in vivo antitumor efficacy of fenretinide encapsulated in polymeric micelles. *Int J Pharm* 2009; 373(1–2): 100–6.
- 7) Murakami Y (Tokyo Univ Agri Tech), Yokoyama M, Nishida H<sup>1)</sup>, Tomizawa Y<sup>1)</sup>, Kurosawa H<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>To-

- kyo Womens Med Univ). *In vivo* and *in vitro* evaluation of gelation and hemostatic properties of a novel tissue-adhesive hydrogel containing a crosslinkable polymeric micelle. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009; 91(1): 102-8.
- 8) Inoue T<sup>1)</sup>, Yamashita Y<sup>1)</sup>, Nishihara M<sup>2)</sup>, Sugiyama S<sup>1)</sup>, Sonoda Y<sup>2)</sup>, Kumabe T<sup>2)</sup> (2KAST), Yokoyama M, Tominaga T<sup>1)</sup> (1Tohoku Univ). Therapeutic efficacy of a polymeric micellar doxorubicin infused by convection-enhanced delivery against intracranial 9L brain tumor models. *Neuro Oncol* 2009; 11(2): 151-7.
  - 9) Shiraishi K (KAST), Kawano K<sup>1)</sup>, Minowa T<sup>1)</sup>, Maitani Y<sup>1)</sup> (1Hoshi Univ), Yokoyama M. Preparation and *in vivo* imaging of PEG-poly (L-lysine)-based polymeric micelle MRI contrast agents. *J Control Release* 2009; 136(1): 14-20.
  - 10) Nishihara M<sup>1)</sup>, Imai K<sup>1)</sup> (1KAST), Yokoyama M. Preparation of perfluorocarbon/fluoroalkyl polymer nanodroplets for cancer-targeted ultrasound contrast agents. *Chem Lett* 2009; 38(6): 556-7.
- ## II. 総 説
- 1) Yokoyama M. Polymeric micelles as a new drug carrier system and their required considerations for clinical trials. *Expert Opin Drug Deliv* 2010; 7(2): 145-58.
  - 2) 横山昌幸. 【薬剤学におけるナノテクノロジー】高分子ミセルの薬剤学分野への応用. *薬剤学* 2010; 70(1): 27-31.
  - 3) 佐口隆之, 古幡 博, 村山雄一, 阿部俊昭. 【虚血性脳卒中 診断と治療の進歩】最近の話題 超音波による血栓溶解. *日内会誌* 2009; 98(6): 1319-24.
  - 4) 横山昌幸. 自己組織化高分子のターゲティングへの応用. *高分子* 2009; 58(7): 469-72.
  - 5) 横山昌幸. DDS と分子イメージング: MRI 造影剤を例にして. *JSMI Report* 2009; 2(2): 9-11.
  - 6) 遠藤怜子, 古幡 博. 【深部静脈血栓症と血管エコー】超音波とは. *Vascular Lab* 2009; 6(3): 20-3.
  - 3) 横山昌幸. 薬物及び造影剤キャリアーとしての高分子ミセル. 第 58 回高分子討論会. 熊本, 9 月.
  - 4) 白石貢一 (KAST), 馬 会利<sup>1)</sup>, 箕輪卓也<sup>1)</sup>, 川野久美<sup>1)</sup>, 横山昌幸, 服部喜之<sup>1)</sup>, 米谷芳枝<sup>1)</sup> (1星薬科大). Accelerated blood clearance phenomenon was not induced by repeated injections of Gadtrinium-containing. 第 25 回日本 DDS 学会. 東京, 7 月.
  - 5) 白石貢一 (KAST), 川野久美<sup>1)</sup>, 箕輪卓也<sup>1)</sup>, 米谷芳枝<sup>1)</sup> (1星薬科大), 堀 勝義 (東北大), 横山昌幸. 腫瘍血流遮断薬による変性領域形成と高分子ミセル集積. 第 25 回日本 DDS 学会. 東京, 7 月.
  - 6) 佐藤 琢 (KAST), 樋口ゆり子<sup>1)</sup>, 川上 茂<sup>1)</sup>, 橋田 充<sup>1)</sup> (1京都大), 影近弘之 (東京医科歯科大), 横山昌幸. 合成レチノイド Am80 及び LE540 の高分子ミセルへの封入. 第 25 回日本 DDS 学会. 東京, 7 月.
  - 7) 白石貢一 (KAST), 馬 会利<sup>1)</sup>, 川野久美<sup>1)</sup>, 米谷芳枝<sup>1)</sup> (1星薬科大), 堀 勝義 (東北大), 横山昌幸. 腫瘍血流遮断薬投与による高分子ミセル MRI 造影剤の腫瘍への集積挙動. 第 4 回日本分子イメージング学会総会・学術集会. 東京, 5 月.
  - 8) 古幡 博. 超音波脳血栓溶解療法の現状と展望. 第 15 回日本脳神経外科救急学会. 東京, 2 月.
  - 9) 古幡 博, 三村秀毅, 荒井あゆみ, 窪田 純<sup>1)</sup>, 荻原 誠<sup>1)</sup>, 佐々木寛<sup>1)</sup>, 佐々木明<sup>1)</sup> (1日立メディコ). 経頭蓋超音波装置による脳血流長時間モニター用のプローブ頭部固定具の開発. 第 15 回日本脳代謝モニタリング学会. 東京, 7 月.
  - 10) 王 作軍, 牧田未央, 成相孝一, 福田隆浩, 古幡 博. Rat 急性脳梗塞モデルにおける rt-PA 静注併用経頭蓋超音波脳血栓溶解法の出血率の検証. 第 12 回日本栓子検出と治療学会. 大阪, 10 月.
  - 11) 荒井あゆみ, 三村秀毅, 荻原 誠<sup>1)</sup>, 佐々木寛<sup>1)</sup>, 上田尚樹<sup>1)</sup>, 窪田 純<sup>1)</sup>, 佐々木明<sup>1)</sup> (1日立メディコ), 金本光一, 古幡 博. TC-CFI プローブ用小型頭部固定具の操作性・固定性についての評価. 第 12 回日本栓子検出と治療学会. 大阪, 10 月.
  - 12) 古幡 博. (シンポジウム 5: Late Breaking Studies) 超音波線溶療法: 脳梗塞治療特区から. 第 12 回日本栓子検出と治療学会. 大阪, 10 月.
  - 13) 古幡 博, 牧田未央, 福田隆浩, 東 隆. 脳卒中易発症高血圧自然発症ラットの加齢に伴う rt-PA・超音波時の頭蓋内出血率の変化. 第 28 回日本脳神経超音波学会総会. 豊中, 7 月.
  - 14) 古幡 博. 脳梗塞 UP TO DATE - 経頭蓋超音波血栓溶解療法 -. 第 50 回日本神経学会総会. 仙台, 5 月.
  - 15) Mitsumura H, Arai A, Ogihara M<sup>1)</sup>, Kubota J<sup>1)</sup> (1Hitachi), Mochio S, Furuhashi H. New probe fixation system for transcranial targeting Low frequency ultrasonic thrombolysis. 14th Meeting of the European
- ## III. 学会発表
- 1) Yokoyama M. Polymeric micelles for diagnosis and chemotherapy of solid tumors. 3rd IREIIMS (International Research and Educational Institute for Integrated Medical Sciences) Symposium. Tokyo, Sept.
  - 2) 白石貢一 (KAST), 川野久美<sup>1)</sup>, 箕輪卓也<sup>1)</sup>, 馬会利<sup>1)</sup>, 米谷芳枝<sup>1)</sup> (1星薬科大), 横山昌幸. ポリエチレングリコール-ポリリシンからなる高分子ミセルの MRI 造影剤への展開. 第 58 回高分子討論会. 熊本, 9 月.

Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics. Riga, May. [Cerebrovasc Dis 2009; 27 (Suppl. 5) : 11]

- 16) Furuhashi H, Makita M, Hinata M, Fukuda T, Azuma T (HITACHI). Hemorrhage rate of spontaneous hypertensive rat stroke prone treated by transcranial ultrasonication with recombinant tissue-plasminogen activator. 14th Meeting of the European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics. Riga, May.
- 17) 遠藤 裕子, 古幡 博. 超音波による組織内一酸化窒素 (NO) 産生現象. 日本超音波医学会関東甲信越地方会第 21 回学術集会. 東京, 11 月.
- 18) 遠藤 裕子, 稲垣卓也, 羽野 寛, 古幡 博, 浅見玲衣, 川畑健一. (ポスターセッション 7 : 超音波解析・応用) 相変化型ナノ液滴の気相化による安全性の病理組織学的評価. 第 48 回日本生体医工学会大会. 東京, 4 月. [生体医工学]
- 19) Mitsumura H, Ogihara M1, Kubota J (Hitachi), Mochio S, Furuhashi H. Transcranial targeting sonothrombolysis method navigating by MRI for acute ischemic stroke. European Stroke Conference 18th Annual Conference. Stockholm, May. [Cerebrovasc Dis 2009; 27 (Suppl. 6) : 165]

## 薬物治療学研究室

教 授 : 景山 茂 臨床薬理学, 糖尿病, 高血圧, レギュラトリサイエンス

### 教育・研究概要

当研究室は 1995 年 7 月に発足した。研究室の名称を臨床薬理学ではなく薬物治療学とした。わが国では臨床薬理学というと新薬開発のための臨床試験, すなわち治験を中心に扱う分野であるという認識が一部にある。当研究室では, 治験に特に重点を置くのではなく, 薬物治療学が中心となるアカデミアにおける臨床薬理学を実践することが主旨である。そこでこの名称を発足時より採用した。

### I. スタチン類の有害事象を検討するケース・コホート研究

スタチン類 (HMG-CoA 還元酵素阻害薬) は高脂血症治療薬として広く使用されているが, 横紋筋融解症等の筋障害や肝障害, 腎障害などの副作用を有する。そこで, 各種スタチンの日本人における筋・肝・腎に関する有害事象の発生割合と血清脂質への効果を明らかにし, これらを異なるスタチン間で比較する大規模なケース・コホート研究のパイロットスタディを 3 つの大学病院等の基幹病院において行い終了した。本研究では, 対象患者集団 (コホート) のうち, 有害事象の有無については対象患者全員について情報を得るが, これ以外の詳細な情報についてはイベントのあったケースとランダムに抽出された一部の非ケース (対象集団の約 5 % からなるサブコホート) から得るケース・コホート研究のデザインを採用した。

現在はスタチン使用者 2 万例を目標におよそ 100 施設の参加を目標に大規模な調査を行っている。なお, 本研究は日本薬剤疫学会, 日本病院薬剤師学会, 東京大学薬剤疫学講座等との共同研究である。

### II. 降圧薬に関する大規模臨床試験

日本人におけるカルシウム拮抗薬といずれの降圧薬との併用が望ましいかを検証する大規模臨床試験 (Optimal Combination of Effective Antihypertensives Study, OCEAN Study) のパイロット試験を終了し, 論文を作成している。