

- 10) Takahashi Y, Tsuji O, Kumagai G, Hara C, Okano HJ, Miyawaki A, Toyama Y, Okano H, Nakamura M. Comparative study of methods for administering neural stem/progenitor cells to treat spinal cord injury in mice. *Cell Transplant* 2011; 20(5): 727-39.
- 11) Hikishima K, Quallo MM, Komaki Y, Yamada M, Kawai K, Momoshima S, Okano HJ, Sasaki E, Tamaki N, Lemon RN, Iriki A, Okano H. Population-averaged standard template brain atlas for the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Neuroimage* 2011; 54(4): 2741-9.

II. 総 説

- 1) 岡野ジェイムス洋尚. 【最先端医療の進歩－臓器移植・再生医療・遺伝子治療】再生医療の進歩 脊髄損傷に対する多角的再生戦略. *小児診療* 2012; 75(1): 78-82.

III. 学会発表

- 1) 岡野ジェイムス洋尚. 神経外傷に対する多角的再生戦略. 日本分析化学会第60年会. 名古屋, 9月.
- 2) 岡野ジェイムス洋尚. 遺伝子改変コモンマウスによるヒト神経疾患モデルの開発. 第21回日本臨床精神神経薬理学会・第41回日本神経精神薬理学会合同年会. 東京, 10月.

IV. 著 書

- 1) 角元恭子¹⁾, 岡野栄之¹⁾(¹⁾慶應義塾大学), 岡野ジェイムス洋尚. 第1章: 運動系 第6節: 運動障害マウス 第3項: HuC ノックアウトマウス～遅発性小脳変性症モデル～. 三品昌美(東京大学)企画・編集. モデル動物利用マニュアル: 疾患モデル動物の作製と利用: 脳・神経疾患. 東京: エル・アイ・シー, 2011. p.111-6.

医用エンジニアリング研究室

教授: 古幡 博 超音波医学
准教授: 横山 昌幸 バイオマテリアル, DDS

教育・研究概要

I. 超音波の医療応用

超音波照射による, 脳梗塞血栓溶解, 腫瘍縮退の臨床実現に関する研究を行った。特に, 先端医療開発特区に採択されている, 「急性脳梗塞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の開発」の実施に関し, 本学の各教室および他大学・施設と共同研究開発を実施した。

1. ラット急性脳梗塞モデルによる安全性評価 (神経病理との共同研究)

急性脳梗塞の非開通状態を招来した場合に, 血栓溶解剤 (rt-PA) と経頭蓋中周波超音波 (500KHz) を照射したときの出血率, 浮腫, 梗塞領域の増減を評価した。超音波を照射することによる悪影響の増加は, 病理組織学的に認められなかった。

2. 頭蓋内における定在波抑制の抑制

超音波は, ヒト頭蓋内で多重反射と定在波を発生させる。ヒト頭蓋骨でのこの定在波をシュリーレン法によって画像化・定量化した。そして, 定在波を抑制するには, 超音波の変調を行うことが有効であることを明らかにした。

3. 超音波血栓成長抑制効果の研究

経皮的超音波照射が血管内血栓形成を阻害することを既に明らかにしてきた。その *in vitro* 定量法を改良して, 反射の影響のない評価システムを確立した。また, t-PA と組み合わせることでその血栓溶解作用を増強することができ, 超音波の粒子速度がその増強効果の支配的要因であることを示した。

4. 超音波生体内音響作用の研究

既に超音波による一酸化窒素 (NO) 産生をリアルタイム測定することに成功している。プローブを改良することで, 腫瘍内での NO 産生を正確に測定できるようになり, 腫瘍成長抑制との関係を示した。

II. 高分子ミセル薬物キャリアーシステム

薬物と造影剤をターゲティングする高分子ミセル型のキャリアーシステムを開発する。

1. 免疫応答評価

高分子ミセルはその外側にポリエチレングリコール (PEG) を有することから, PEG-修飾リボソームで知られている免疫現象である ABC 現象を引き

起こす懸念がある。ABC現象が起こると、ターゲティング性能が顕著に低くなる。ABC現象で典型的に見られる、2回目の投与でキャリアーの血中濃度が減少することが、高分子ミセルでは起きないことがわかった。また、このABC現象の主要因として従来考えられてきたPEG主鎖に対する抗体ではなく、PEGと疎水部の境界を認識する抗体が主たる役割を果たしていることを明らかにした。

2. ミセル内核の解析

高分子ミセルキャリアー内に薬物がどのような分布状態で封入されると、生体内のターゲティングを実現する安定性を示すかについては、全く情報がなかった。Spring8の強力な放射光を用いた散乱解析によってモデル化合物のミセル内核での分布を調べると、外殻との境界にはみ出して分布している新知見が得られた。

3. 内核を光架橋した高分子ミセル作製

高分子ミセルは体内で解離することで長期的な蓄積毒性がないことが特長であるが、その*in vivo*で解離挙動のターゲティングへの影響が未解明である。この解明には、ミセルの大きさ、物性が通常のミセルと同一で解離しないミセルが最も有効な手段である。このために、光照射によってミセル内核が化学的に架橋するシステムを構築した。光架橋部分としてカルコン基の導入量を制御することで、1個のミセルがほぼ完全に化学架橋したものを得ることに成功した。

III. 画像診断用高分子造影剤の研究

合成高分子を用いて超音波とMRI造影剤を作製し、その機能解析を行った。

1. 超音波造影剤

液体のパーフルオロカーボンに内部に含む高分子エマルジョンである。この液体は超音波照射によって気体に相変化し、高い超音波造影効果を示す。従来は、がん組織に浸透できるような粒径200nm程度のエマルジョンを作製することはできなかった。超音波洗浄機の超音波照射という容易な方法によって、従来法に比べて著しく小さな平均粒径170~220nmのエマルジョンを形成し、マウスで従来のエマルジョンよりも高い血中循環性を得た。

2. MRI造影剤

内部にガドリニウムイオンを封入した高分子ミセルを作製した。これは、マウス固形がん組織の血管透過性のために、がんターゲティングされて、T1コントラストを高くがん部位を画像化することができる。一方、脳梗塞虚血部位では固形がんと同様に

高分子に対する血管透過性が充進することが知られていたが、脳梗塞の診断に高分子の造影剤を用いる研究は従来無かった。高分子ミセル造影剤によって、脳梗塞虚血梗塞部位が20分から1時間という短時間で、コントラスト高く造影されることを見いだした。ここで得られたコントラスト高いMRI画像は、従来の低分子MRI造影剤で得られることはなかった。高分子であるrt-PAが脳組織に浸透して出血を起こす危険部位を高分子の造影剤が描出することが期待される。

IV. 研究室配属

1名の研究室配属では、造影剤キャリアーのためのポリアミノ酸の高分子合成を行った。

「点検・評価」

スーパー特区研究として急性脳梗塞治療の研究を実施した。血栓溶解に対する超音波の効果を定量する*in vitro*システムが確立でき、精密な解析を実行することができた。さらに経頭蓋的な超音波の影響について新設した大型シュリーレン装置を用いることで、極めて円滑に研究を追求することができた。

同じく超音波の医療応用ではあるが、脳梗塞のみではなく、固形がんへのデリバリー増強という新しいテーマへの足がかりが得られたことは、今後の進展に大きな者であったと考える。

高分子ミセル薬物キャリアーシステムは、横山が研究開発に係わった抗がん剤システムが4種類臨床試験中である。この状況に鑑み、次の世代の開発のための基礎工学研究に重点をおいている。造影剤高分子ミセルがABC現象という免疫現象を示さない事実は、高分子ミセルがキャリアーシステムとして大変優れていることをしめす。また、このABC現象の解析を通じて、ABC現象を起こす機構に関する免疫学の基礎に解明が及んだことは大きな波及効果であった。ABC現象は細胞障害性でない、マイルドな薬物をターゲティングする今後の研究開発には、重要な点となる。(マイルドな薬物として研究している一例は、レチノイドである。)また、ミセル内核物性の解析と光架橋高分子ミセルの作製は、基礎的には重要なアプローチ・方法であるが、そのために必要な技術がかなり高度なものである。よって、その基盤が確立したことは大変有意義であると信ずる。

MRI造影剤については固形がんと脳梗塞のMRI造影に、大きな基盤が構築できたと信ずる。固形がんに対しては、臨床試験中の抗がん剤システムの化

学療法と画像診断を組合せた「Theranostics」のよい例として、開発する基盤が整ったと言える。また、高分子の造影剤が脳梗塞領域に短時間で高いコントラストを与えるという、今回の発見は、脳梗塞へのターゲティング型画像診断と薬物治療への高分子キャリアーシステムの応用という、全く新規の医療システムの先駆けとなる。

教育面では、数少ないながら3年生1名に研究室配属で、造影剤キャリアーのためのポリアミノ酸の高分子合成を体験・研究してもらった。体験の最初の頃は、予想に反して重合度が高くならず苦労した。医師は認可された医療システムを使う立場からのみ見ることが通常である。それとは逆に、その医療システムを創造・構築する側から眺めて研究を体験することは、希少であり貴重な体験と言える。特に、論文には報告されることが少ない、うまく行かない合成を体験し、それを克服することを経験してもらったことは重要であると考えられる。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Wang Z, Fukuda T, Azuma T (Univ. Tokyo), Furuhashi H. Safety of low-frequency transcranial ultrasound in permanent middle cerebral artery occlusion in spontaneously hypertensive rats. *Cerebrovasc Dis* 2012; 33(1): 23-9.
- 2) Shiraishi K, Harada Y (Kyushu Univ.), Kawano K¹⁾, Maitani Y¹⁾ (¹Hoshi Univ.), Hori K (Tohoku Univ.), Yanagihara K (Yasuda Woman's Univ.), Takigahara M (National Cancer Center Inst.), Yokoyama M. Tumor environment changed by combretastatin derivative (Cderiv) pretreatment that leads to effective tumor targeting, MRI studies, and antitumor activity of polymeric micelle carrier systems. *Pharm Res* 2012; 29(1): 178-86.
- 3) Shiraishi K, Endo R, Furuhashi H, Nishihara M (Kyushu Univ.), Suzuki R¹⁾, Maruyama K¹⁾ (¹Teikyo Univ.), Jo J²⁾, Tabata Y²⁾, Yamamoto J²⁾ (²Kyoto Univ.), Yokoyama M. A facile preparation method of a PFC-containing nano-sized emulsion for theranostics of solid tumors. *Int J Pharm* 2011; 421(2): 379-87.
- 4) 澤口能一, 王 作軍, 古幡 博. 超音波は血栓成長を抑制する 血栓成長抑制・再開塞予防の可能性. *超音波医* 2011; 38(5): 549-55.
- 5) 栓溶解療法への展望 現状から近未来へ. 医のあゆみ 2011; 238(2): 189-95.
- 6) 古幡 博. 【最新 超音波診断データブック】超音波診断装置の安全性の確保. *臨画像* 2011; 27(4月増刊): 6-9.
- 7) Yokoyama M. Clinical applications of polymeric micelle carrier systems in chemotherapy and image diagnosis of solid tumors. *J Expe Clin Med* 2011; 3(4): 151-8.

III. 学会発表

- 1) Yokoyama M, Shiraishi K, Kawano K¹⁾, Maitani Y¹⁾ (¹Hoshi Univ.). Theranosis with a polymeric micelle carrier system. 2011 Annual Spring Meeting of the Polymer Society of Korea. Daejeon, Apr.
- 2) 古幡 博. (特別講演Ⅱ) 次世代脳神経超音波治療への挑戦の展望. 第20回京都脳神経・脈管超音波セミナー. 京都, 4月.
- 3) 白石貢一, 加藤順一¹⁾, 大川春樹¹⁾, 橋本和彦¹⁾ (¹工学院大学), 伊東聖訓²⁾, 遊佐真一²⁾ (²兵庫県立大学), 横山昌幸. 光架橋可能なカルコン誘導体を用いる内核架橋高分子ミセルの作製. 第60回高分子学会年次大会. 大阪, 5月.
- 4) Mitsumura H, Sengoku R, Kono Y, Morita M, Furuhashi H, Mochio S. Very early recanalization after systemic thrombolysis monitoring by transcranial color flow imaging. 16th Meeting of the European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics. Munich, May.
- 5) Yoshikazu S, Wang Z, Furuhashi H. Ultrasound can control embolus growth. 16th Meeting of the European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics. Munich, May.
- 6) 古幡 博. (日本超音波医学会第10回教育セッション) 超音波の医学生物学的安全性-超音波治療の視点から-. 日本超音波医学会第84回学術集会. 東京, 5月.
- 7) 白石貢一, 遠藤怜子, 王 作軍, 青木伊知男¹⁾ (¹放医研), 横山昌幸. 急性脳梗塞 tPA 治療時における出血リスクの高分子ミセル MRI 造影剤による評価. 第6回日本分子イメージング学会学術集会. 神戸, 5月.
- 8) 白石貢一, 増田昌子¹⁾, 橋本和彦¹⁾ (¹工学院大), 真田雄介²⁾, 櫻井和朗²⁾ (²北九州市立大学), 横山昌幸. 薬物封入高分子ミセルの構造解析と放出挙動. 第27回日本 DDS 学会学術集会. 東京, 6月.
- 9) Shiraishi K, Ma H¹⁾, Kawano K¹⁾, Maitani Y¹⁾ (¹Hoshi Univ.), Yokoyama M. Effect of inner core character of polymeric micelles on ABC phenomenon. 38th Annual Meeting and Exposition of the Con-

II. 総 説

- 1) 古幡 博. 【超音波治療の最前線】次世代超音波血

- trolled Release Society. National Harbor, July.
- 10) Shiraishi K, Endo R, Wang A, Aoki I (National Institute of Radiological Sciences), Yokoyama M. Polymeric micelle MRI contrast agent detects hemorrhagic risk of t-PA leakage in acute ischemic stroke. 2011 World Molecular Imaging Congress. San Diego, Sept.
- 11) 白石貢一, 真田雄介¹⁾, 櫻井和朗¹⁾(¹北九州市立大学), 横山昌幸. 薬物封入高分子ミセルの詳細な構造解析と薬物と高分子の相互作用. 第60回高分子討論会. 岡山, 9月.
- 12) Yokoyama M, Shiraishi K, Kawano K¹⁾, Maitani Y¹⁾(¹Hoshi Univ.) Targeted diagnosis and therapy using polymeric micelle carriers. 14th Asian Chemical Congress 2011. Bangkok, Sept.
- 13) Mitsumura H, Sakuta K, Furuhashi H, Mochio S. Diagnostic ability of right-to-left shunt in intracranial vertebral artery by transcranial color flow imaging. 15th Neurosonology Research Group Meeting. Beijing, Oct.
- 14) 東 隆 (東京大学), 荻原 誠¹⁾, 窪田 純¹⁾, 佐々木 明¹⁾(¹日立メディコ), 梅村晋一郎 (東北大学), 古幡 博. 血栓溶解/血流画像撮像用治療・モニタリング一体型超音波プローブの開発. 第14回日本栓子検出と治療学会. 仙台, 11月.
- 15) 清水 純, 遠藤怜子, 古幡 博, 福田隆浩, 稲垣卓也, 羽野 寛, 浅見玲衣¹⁾, 川畑健一¹⁾(¹日立製作所), 横山昌幸. 血栓溶解への新しい技術 Superheated Perfluorocarbon Nanodroplet の安全性評価. 第14回日本栓子検出と治療学会. 仙台, 11月.
- 16) 澤口能一, 王 作軍, 古幡 博. 超音波による血栓成長抑制-血栓成長抑制・再開塞予防の新規アプローチ. 第14回日本栓子検出と治療学会. 仙台, 11月.
- 17) 遠藤 薫¹⁾, 古賀政利¹⁾, 佐藤和明¹⁾, 鈴木理恵子¹⁾, 山本晴子¹⁾, 豊田一則¹⁾, 古幡 博, 峰松一夫¹⁾(¹国立循環器病センター). 経頭蓋カラードプラ法における探蝕子頭部固定具の開発. 第14回日本栓子検出と治療学会. 仙台, 11月.
- 18) 横山昌幸. 新薬アップデート ドラッグデリバリーシステム. 第11回オンコロジーセミナー. 東京, 11月.
- 19) 横山昌幸. 高分子ミセルキャリアー, その長所と短所. 東京女子医科大学櫻井靖久名誉教授追悼シンポジウム「医学・薬学・工学の融合を目指して」. 東京, 12月.
- 的医療を創出する DDS 開発戦略”. Drug Delivery Syst 2011 ; 26(2) : 158-9.

V. その他

- 1) 横山昌幸. 追悼 櫻井靖久先生. Drug Delivery Syst 2011 ; 26(2) : 135-7.
- 2) 横山昌幸. 学会印象記 シンポジウム 2010 “革新