

A, Okano HJ, Sasaki E, Okano H. Atlas of the developing brain of the marmoset monkey constructed using magnetic resonance histology. *Neuroscience* 2013; 230: 102-13.

- 11) Mizutani K, Fujioka M, Hosoya M, Bramhall N, Okano HJ, Okano H, Edge ASB. Notch inhibition induces cochlear hair cell regeneration and recovery of hearing after acoustic trauma. *Neuron* 2013; 77(1): 1-12.
- 12) Nishimoto Y, Okano HJ, Imai T, Poole AJ, Suzuki N, Keirstead HS, Okano H. Cellular toxicity induced by the 26-kDa fragment and amyotrophic lateral sclerosis-associated mutant forms of TAR DNA-binding protein 43 in human embryonic stem cell-derived motor neurons. *Neurology and Clinical Neuroscience* 2013; 1(1): 24-31.
- 13) Imai S, Ikegami D, Shimizu T, Narita M, Niikura K, Furuya M, Kobayashi Y, Miyashita K, Okutsu D, Kato A, Nakamura A, Araki A, Omi K, Nakamura M, Okano HJ, Okano H, Ando T, Takeshima H, Ushijima T, Kuzumaki N, Suzuki T, Narita M. Epigenetic transcriptional activation of monocyte chemotactic protein 3 contributes to long-lasting neuropathic pain. *Brain* 2013; 136(Pt.3): 828-43.

III. 学会発表

- 1) 岡野ジェイムス洋尚, 角元恭子¹⁾, 吉田 哲¹⁾, ロバート・ダーネル (ロックフェラー大), 岡野栄之¹⁾ (慶大). 小脳プルキンエ細胞におけるHuCの機能. 第35回日本神経科学大会. 名古屋, 9月.
- 2) 井上 賢¹⁾, 原 晃一¹⁾, 正島啓吾¹⁾, 小牧裕司¹⁾, 伊藤豊志雄 (実験動物中央研究所), 岩田祐士 (鳥津製作所), 塚田秀夫 (浜松ホトニクス), 岡野ジェイムス洋尚, 吉田一成¹⁾, 岡野栄之¹⁾ (慶大). マーモセットのMCAOモデルの作成と評価方法. 第35回日本神経科学大会. 名古屋, 9月.
- 3) 正島啓吾¹⁾, 澤田和彦 (つくば国際大), 村山綾子¹⁾, 小牧裕司¹⁾, 川井健司²⁾, 佐藤菜名子²⁾, 井上貴史²⁾, 伊藤豊志雄²⁾, 百島祐貴¹⁾, 岡野ジェイムス洋尚, 佐々木えりか²⁾ (実験動物中央研究所), 岡野栄之¹⁾ (慶大). 高分解能MRIによるマーモセット発達脳の画像解析. 第35回日本神経科学大会. 名古屋, 9月.
- 4) 澤田和彦 (つくば国際大), 正島啓吾¹⁾, 岡野ジェイムス洋尚, 佐々木えりか (実験動物中央研究所), 岡野栄之¹⁾ (慶大). 高分解能MRIによるマーモセット大脳の脳溝形成の解析. 第35回日本神経科学大会. 名古屋, 9月.
- 5) 岡野ジェイムス洋尚. 幹細胞および先進的モデル動物を用いた再生研究. ナノメディスンフォーラム. 東京, 10月.

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
講師: 白石 貢一 高分子化学, 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・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)と経頭蓋中周波数超音波(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. 頭蓋内における雑音変調駆動による音場分布の均一化

ヒト頭蓋内部への超音波照射は超音波振動子の近距離における不均一さから, 頭蓋内部において音響分布の不均一さを誘起する。すなわち, 音響強度の強い部位では脳出血の危険性が高くなり, 弱い部位では血栓溶解効果が低くなる。この音響強度の不均一性を雑音変調法の導入により解消した。この際, ユニフォーミティインデックスという新たな基準を導入し評価を行った。

3. 超音波血栓溶解効果の2D評価法の開発

超音波血栓溶解療法は超音波照射により効果的に血栓を溶解させる必要がある。そのためには超音波照射による血栓溶解効果を精密に評価するシステムを確立し, 超音波と血栓溶解効果との関係をはかる必要がある。血栓の吸光度マッピングから超音波照射による溶解効果を評価する新たなシステムを確立した。本システムにおいて, 1MHzの超音波照射とt-PAとの組み合わせにより血栓溶解作用を増強することができることが明らかとなった。

4. 超音波生体内音響作用の研究

既に腫瘍組織への超音波照射による一酸化窒素(NO)産生をNO電極を用いることで実時間測定することに成功している。腫瘍組織への超音波照射によりによるNO産生と腫瘍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

ドラッグキャリアーに用いる生体親和性の高いポリエチレングリコール (PEG) に対する免疫現象である ABC 現象について高分子ミセルに関して検討を行った。この ABC 現象においては PEG に対する抗体産生により 2 回目に投与されるキャリアーのターゲティング性能が顕著に低くなるが、高分子ミセルキャリアーでは起きない場合があることがわかった。特に、高分子ミセル MRI 造影剤においては、1 回目の投与により PEG に対する抗体を全く産生しないことが明らかとなった。また、同じ PEG を有する PEG-リポソームと高分子ミセルとの同時投与により、PEG-リポソームが選択的に血中から排除されていることが明らかとなった。この ABC 現象の主要因として従来考えられてきた PEG 主鎖に対する抗体は、PEG 主鎖に結合する抗体ではないことが新たな知見として得られた。すなわち、この産生される PEG に対する抗体とは PEG が疎水部を有する際に産生され、産生された抗体は PEG と疎水部との境界に結合する抗体であり、それが本免疫現象の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の大きさ、特に疎水性内核の大きさと構造、さらに内包された薬物分布についての情報はこれまで得られてこなかった。この高分子ミセル内核の極微小領域の精密構造解析を行い、生体内のターゲティングとの相関をとることを目的に放射光 (SPring8) を用いた散乱測定により構造解析を行った。この結果、高分子ミセルの疎水性内核は、内核を形成する疎水性基のわずかな相違により劇的に構造を変化させることが明らかとなった。この構造解析による高分子ミセル構造と生体中の安定性との関係が示唆された。

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. 高分子ミセル MRI 造影剤

脳梗塞診断のための高分子ミセル MRI 造影剤を作製した。既に、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。

2. 高分子 MRI 造影剤

脳梗塞におけるより速い脳組織への浸透と造影による明瞭な画像解析を達成するために、新たな高分子キャリアーとしてポリグルタミン酸の合成を行った。これまで達成した高分子ミセル MRI 造影剤と比較して、分子量が小さく、かつ造影可能な適切な大きさの分子量を有するポリグルタミン酸を数種合成した。今後は、合成されたポリグルタミン酸を用いた MRI 造影剤の作製を行い、分子量による脳組織への透過性を評価していく。

IV. 研究室配属

1 名の研究室配属では、脳梗塞を診断用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高速マッピングシステムを開発し、その *in vitro* 評価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、超音波振動子の不均一性を均一化する雑音変動駆動法を導入するなど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ものであったと考える。

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、特に産生される抗体の本質に解明が及んだことは大きな波及効果であった。

また、高分子ミセル内核物性の放射光を用いた解析は、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。さらにその方向性を決めるために、脳梗塞診断に向けた新たなキャリアーシステムの開発を開始した。

教育面では、数少ないながら3年生1名に6週間の研究室配属で、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。6週間の研究室配属では短いながらも高分子合成を体験し、実験の失敗と成功を繰り返すことによって研究を行う際に何が重要かを学んでもらった。医療技術が新たに創造・構築される基礎研究の段階を経験することは、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。3年生ということもあり、基礎的な化学の知識を有していたため、実験では何が起きているかを理解することはできていたと感じるが、最新の化学合成や分析装置の取り扱いについての技術体得のためには時間を要した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Koide H¹, Asai T¹, Kato H¹, Ando H¹, Shiraishi K, Yokoyama M, Oku N¹(¹Shizuoka Univ). Size-dependent induction of accelerated blood clearance phenomenon by repeated injections of polymeric micelles. *Int J Pharm* 2012; 432(1-2): 75-9.
- 2) Sanada Y¹, Akiba I¹, Hashida S¹, Sakurai K¹(¹Kitakyushu Univ), Shiraishi K, Yokoyama M, Yagi N (JASRI), Shinohara Y², Amemiya Y²(²Tokyo Univ). Composition dependence of the micellar architecture made from poly (ethylene glycol)-block-poly (partially benzyl-esterified aspartic acid). *J Phys Chem B* 2012; 116(28): 8241-50.
- 3) Shimizu J, Endoh R, Fukuda T, Inagaki T, Hano H, Asami R¹, Kawabata K¹(¹Hitachi), Yokoyama M,

Furuhata H. Safety evaluation of superheated perfluorocarbon nanodroplets for novel phase change type neurological therapeutic agents. *Perspectives in Medicine* 2012; 1(1-12): 25-9.

- 4) Shimizu J, Fukuda T, Abe T, Ogihara M¹, Kubota J¹, Sasaki A¹(¹Hitachi Medical), Azuma T (Hitachi), Sasaki K (Tokyo Univ of Agriculture), Shimizu K (Okayama Univ), Oishi T (Kyoto Univ), Umemiya S (Tohoku Univ), Furuhashi H. Ultrasound safety with midfrequency transcranial sonothrombolysis: preliminary study on normal macaca monkey brain. *Ultrasound Med Biol* 2012; 38(6): 1040-50.
- 5) Shiraishi K, Hamano M¹, Kawano K¹, Maitani Y¹(¹Hoshi Univ), Aoshi T², Ishii JK²(²NIBIO). Hydrophobic blocks of PEG-conjugates play a significant role in the accelerated blood clearance (ABC) phenomenon. *J Control Release* 2013; 165(3): 183-90.
- 6) Koganei H¹, Ueno M¹, Tachikawa S¹, Tasaki L¹, Ban HS¹, Suzuki M¹, Shiraishi K, Kawano K², Yokoyama M, Maitani Y²(²Hoshi Univ), Ono K¹, Nakamura H¹(¹Gakushuin Univ). Development of high boron content liposomes and their promising antitumor effect for neutron capture therapy of cancers. *Bioconjug Chem* 2013; 24(1): 124-32.
- 7) 真田雄介¹, 秋葉 勇¹, 橋田智史¹(¹北九州市立大), 白石貢一, 横山昌幸, 八木直人 (高輝度光科学研究センター), 篠原裕也², 雨宮慶幸², 櫻井和朗²(²東大). SAXSとFFF-MLASを組み合わせた高分子ミセルのキャラクタリゼーション. *高分子論文集* 2012; 69(7): 346-57.

II. 総 説

- 1) 青木裕之, 横山昌幸. DDS研究のための最新機器 (No.8) 超音響イメージング装置. *Drug Delivery Syst* 2012; 27(3): 213-7.

III. 学会発表

- 1) 齋藤 理, 古幡 博. 定在波抑制のための雑音位相変調方式について. 日本超音波医学会第85回学術集会. 東京, 5月.
- 2) Saito O, Shimizu J, Furuhashi H. Standing wave suppression in a human skull by randomly modulated ultrasound. 17th Meeting of the European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics, Venice, May.
- 3) 白石貢一, 浜野幹子¹, 川野久美¹, 米谷芳枝¹(¹星薬科大), 横山昌幸. 高分子ミセル MRI 造影剤のPEGに対する免疫現象. 日本分子イメージング学会第7回学会総会・学術集会. 浜松, 5月.

- 4) 白石貢一, 真田雄介¹⁾, 櫻井和朗¹⁾, (¹北九州市立大), 横山昌幸. 高分子ミセル構造解析・特性により明らかにされるブロックコポリマー組成が高分子ミセル表面 PEG 密度へ与える影響. 第 61 回高分子学会年次大会. 横浜, 5 月.
- 5) 白石貢一, 浜野幹子¹⁾, 川野久美¹⁾, 米谷芳枝¹⁾ (¹星薬科大), 青枝大貴²⁾, 石井 健²⁾(²医薬基盤研), 横山昌幸. ABC 現象を担う IgM 抗体と PEG の認識領域の検証. 第 28 回日本 DDS 学会学術集会. 札幌, 7 月.
- 6) 白石貢一, 浜野幹子¹⁾, 川野久美¹⁾, 米谷芳枝¹⁾ (¹星薬科大), 青枝大貴²⁾, 石井 健²⁾(²医薬基盤研), 横山昌幸. 粒子径依存的な ABC 現象解明に向けた光内核架橋可能な高分子ミセルの作製. 第 28 回日本 DDS 学会学術集会. 札幌, 7 月.
- 7) 白石貢一, 川野久美¹⁾, 米谷芳枝¹⁾(¹星薬科大), 真田雄介²⁾, 櫻井和朗²⁾(²北九州市立大), 青枝大貴³⁾, 石井 健³⁾(³医薬基盤研), 横山昌幸. ABC 現象における PEG IgM 抗体とキャリア設計における PEG の重要性. 第 12 回遺伝子デリバリー研究会夏季セミナー. 北九州, 7 月.
- 8) 横山昌幸, 白石貢一, 川野久美¹⁾, 米谷芳枝¹⁾(¹星薬科大), 遊佐真一²⁾(²兵庫県立大). 光架橋高分子ミセルの DDS 研究における意義. 第 12 回遺伝子デリバリー研究会夏季セミナー. 北九州, 7 月.
- 9) Shiraiishi K, Ma H¹⁾, Kawano K¹⁾, Maitani Y¹⁾ (¹Hoshi Univ), Aoshi T²⁾, Ishii K²⁾(²NIBIO), Yokoyama M. PEG-related nanocarriers, potential as diagnostic agent and its immune response. World Molecular Imaging Congress 2012. Dublin, Sept.
- 10) 白石貢一, 川野久美¹⁾, 米谷芳枝¹⁾(¹星薬科大), 真田雄介²⁾, 櫻井和朗²⁾(²北九州市立大), 青枝大貴³⁾, 石井 健³⁾(³医薬基盤研), 横山昌幸. 高分子ミセルの構造制御と PEG を介する免疫現象の誘導と認識との関係. 第 61 回高分子討論会. 名古屋, 9 月.
- 11) 白石貢一, 中井啓太¹⁾, 遊佐真一¹⁾(¹兵庫県立大), 横山昌幸. Preparation of photo cross-linkable polymeric micelles for elucidation of size dependent PEG-related immune response. 第 61 回高分子討論会. 名古屋, 9 月.
- 12) 齋藤 理, 古幡 博. ランダム変調駆動による超音波ビーム均一化の評価. 第 15 回日本栓子検出と治療学会. 大阪, 10 月.
- 13) 齋藤 理, 古幡 博. 超音波振動子のランダム変調駆動による定在波抑制. 第 15 回日本栓子検出と治療学会. 大阪, 10 月.
- 14) 王 作軍, 古幡 博. 超音波パラメーターと血栓溶解増強効果の関係に関する実験的研究. 第 15 回日本栓子検出と治療学会. 大阪, 10 月.
- 15) 横山昌幸, 白石貢一, 川野久美¹⁾, 米谷芳枝¹⁾(¹星薬科大), 青枝大貴²⁾, 石井 健²⁾(²医薬基盤研). PEG を有するキャリアにより産生される抗 PEG IgM 抗体の認識領域. 日本バイオマテリアル学会大会シンポジウム 2012. 仙台, 11 月.
- 16) 白石貢一, 横山昌幸, 中井啓太¹⁾, 遊佐真一¹⁾(¹兵庫県立大). PEG に対する免疫現象である ABC 現象の解明に向けた光内核架橋高分子ミセルの作製. 日本バイオマテリアル学会大会シンポジウム 2012. 仙台, 11 月.
- 17) Yokoyama M, Shiraiishi K. Polymeric micelle carriers for theranostics of various diseases. 2012 International Conference of the Korean Society of Pharmaceutical Sciences and Technology. Pohang, Dec.
- 18) Yokoyama M, Shiraiishi K. Chemistry and targeting therapeutics. Chemistry Seminar in Pohang University of Science and Technology. Gwangju, Nov.

IV. 著 書

- 1) 古幡 博. 【治療可能時間の延長に挑む】超音波併用血栓溶解療法の原理と未来. 脳と循環 2012; 17(2): 141-5.