

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第6分野

医用材料及び製剤設計技術の開発に関する研究

活性タンパク利用技術としての新規ドラッグ・デリバリー・システムの開発研究

所属 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター
研究者 五十嵐理慧

分担研究者

- (1) 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター 檜垣恵、武永美津子、小川泰亮
- (2) 東京慈恵医科大学総合医学研究所DDS研究所 木村道夫、松石哲郎、水島裕

要旨

生理活性ペプチド利用技術としての新規 DDS を開発するために検討を行い以下の結果を得た。BDNF にレシチンを結合することによって db/db 糖尿病マウスにおける薬理効果の著明な増強が見られレシチン化の技術が神経系へのターゲットに有用と考えられた。PLGA-インスリンは初期放出が抑制された画期的な徐放製剤が作製できた。500 nm サイズの抗原-PLGA ナノカプセルは樹状細胞の細胞質への取り込みが見られワクチンや癌治療における ex vivo 法への応用が期待できる。

1. 研究目的

「生理活性ペプチドを医薬品として臨床実用化すること」すなわち生理活性ペプチド（タンパクを含む）利用技術としての新規ドラッグ・デリバリー・システム(DDS)の開発研究を推進する。具体的内容は(1)活性ペプチド（タンパクを含む）のレシチン化についてはこれまでスーパーオキシドデイズムターゼ(SOD)やインターロイキン-6(IL-6)にレシチン誘導体を結合すると細胞親和性、組織親和性が増加することで薬理効果の顕著な増強が得られることを示してきた。この技術を脳神経由来神経栄養因子(BDNF)に導入し、神経系へのデリバリーを検討する。近年注目されている神経系の再生医療において BDNF をはじめ神経成長因子(NGF)や NT-3、グリア細胞由来神経栄養因子(GDNF)などが有用であるとされる。レシチン化によってこれら神経栄養因子の効果をさらに確実なものにする。(2)生分解性ポリマーであるポリ乳酸ポリグリコール酸共重合体(PLGA)やガラクトアミノグリカン(コンドロイチン硫酸やヒアルロン酸)を用いて生理活性ペプチドをカプセル化し徐放製剤とする。さらに再生医療におけるスキャホールドとしての利用を考える。カプセル化したペプチドの放出は初期バーストが問題となるが初期バーストを抑制するために添加剤を工夫する。本年度は基礎分泌補充療法のための PLGA-インスリンおよび bFGF-ヒアルロン酸徐放製剤を作製する。(3)樹状細胞への免疫抗原の取り込みの促進を目指し、抗原をナノカプセル化する。近年樹状細胞が特異的な免疫応答を効率よく誘導することが明らかになったことからこの樹状細胞をワクチンやがん治療に応用することを考えた。樹状細胞による抗原の取り込みは細胞表面受容体を介する吸着性エンドサイトーシス、100-500 nm の可溶性物質や液体を取り込む液相エンドサイトーシス(飲作用)、500 nm-3 μ m の物質はマクロエンドサイトーシス(大飲作用)、さらに大型の粒子状抗原は食食作用による。この取り込み機構のうちマクロピノサイトーシスと受容体を介する抗原の取り込みによっては微量の抗原でも抗原提示が可能である。それゆえマクロエンドサイトーシスによる効果的な免疫応答の誘導を目的とし抗原を特定の

生理活性ペプチドの新規 DDS 技術の開発

I レシチン化とカプセル化

- 1) 神経系へのターゲットをめざしたペプチドのレシチン化
- 2) グリコサミノグリカンおよび PLGA を用いたペプチドのマイクロカプセル化
徐放および樹状細胞へのターゲッティング
スキャホールドへの応用

II 細胞外遺伝子操作による修飾生理活性ペプチドの作製

サイズにカプセル化することを検討した。(4)レシチン化をはじめ生理活性ペプチドの化学修飾はこれまで有機合成法で作製していたが、この方法ではペプチドの修飾部分がランダムである上、分子あたりの修飾

基導入数も分布があり、薬として開発するための規格化が困難であった。そこで近年一躍進歩し確立してきている細胞外遺伝子操作によるペプチド合成法を化学修飾生理活性ペプチド作製法に利用しようと考えた。この方法が可能となれば修飾部位の同定、導入数が計画的に作製できることになり画期的で精度の高い修飾ペプチド作製法になる。

2. 研究方法

(1) r-hBDNF溶液をpH11としアミノ基モルに対して0.6当量の2-0-(4-hydroxybutyryl) lisophosphatidyl choline(PC)のhydroxysuccineimide esterを滴下し、水冷下で12時間攪拌した。反応液を分子量10,000排除の限外ろ過膜を用いてろ過し、未反応の試薬ならびに低分子量物質を除去した後に、溶媒を10 mM KH₂PO₄/H₃PO₄-0.1 % BSA (pH 3.0)混液に置換し透明とした。2-0-(4-hydroxybutyryl) lisophosphatidyl cholineのr-hBDNFへの結合割合は飛行時間型マスペクトル(TOF-MALDI MS)により測定した。レシチン化BDNF(PC-BDNF)の*in vitro*細胞増殖活性をBAF 1rk B細胞を用いて測定し、レシチン化による活性の変化を検討した。細胞増殖活性はMTT法で測定した。db/db糖尿病マウスにPC-BDNFおよび非修飾BDNFを5日間背部皮下投与しその後投与21日目までマウスの摂食量、血糖値、体重に対する効果を検討した。

(2) ポリ乳酸-グリコール酸(PLGA; 平均分子量4,100-10,000, 乳酸/グリコール酸比; 50/50)を基剤とし、2段階乳化後水中乾燥法でインスリンマイクロカプセルを調製し内因性インスリン放出のほとんどみられないストレプトゾトシン惹起糖尿病ラットにこのインスリン製剤を皮下投与し、血漿インスリン濃度を測定するために経時的に眼静脈叢から血液を採取し、インスリン値はインスリン測定RIAキットを用いて測定した。製剤からのインスリン放出は*in vitro*でも評価した。インスリン製剤を一定量のPBS(-)中に懸濁し37℃にてインキュベートした。経時的に遠心分離操作を行い、上清中に含まれるインスリン量をLowry法にて既知濃度インスリン溶液を標準溶液として測定し算出した。さらにグリコサミノグリカンと塩基性ペプチドであるbFGFについて結合体を作製し、bFGF放出性と血管新生効果を検討した。

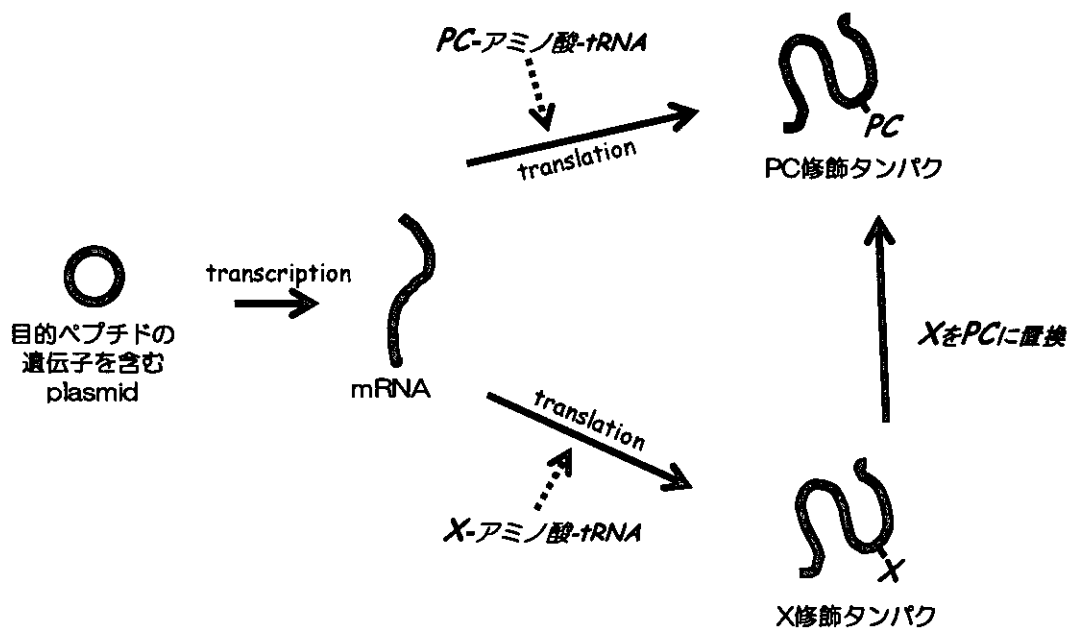
(3) 免疫抗原のナノカプセル化をおこなった。ナノ粒子の作製は生体内分解性のポリ乳酸・ポリグリコール酸(PLGA)を用いてエマルション滴(抗原・PLGA・有機溶媒)から溶媒を外相の油相(O/Oエマルション)に拡散させ、液滴内で薬物と高分子を共沈させるエマルション溶媒拡散法でマトリックス型のナノスフェアを、W(抗原液)/O(PLGA有機溶媒液)型エマルションの外相にPLGAの貧溶媒を添加してPLGAを相分離させるエマルション相分離法によりナノカプセルを作製した。粒子の大きさは界面活性剤(レシチン)およびコレステロール量により調節した。抗原としては破傷風トキソイド(TT)およびインフルエンザHA抗原を使用した。さらに抗原の代りにFITCまたはRD-PEを内包したのも作製した。マウスおよびヒト樹状細胞の分離は磁気ビーズを用いたネガティブセレクションにより6週令のメスBalb/cおよびC57BL/6マウスの骨髄より幹細胞(CD5, CD45R, CD11b, Gr-1, TFR119)および成熟樹状細胞(CD2, CD3, CD45R, Gr-1, 7-4, TER119)を分離し、GM-CSFおよびIL-4の存在下に培養した。一方、末梢血単核細胞を分離したのちCD14陽性画分を得て、10%FCS添加のRPMI-1640中でrhGM-CSFおよびrhIL-4存在下に8日間培養した。樹状細胞はPE標識CD1a, CD40, CD83, FITC標識CD86, CD14, DR抗原の二重染色でFCM確認した。また、ヒト樹状細胞は末梢血から磁気ビーズを用いてT細胞、単球、NK細胞を除いたのちCD34陽性細胞をポジティブセレクションして得た。さらにGM-CSF, IL-4を添加して増殖させた。ヒトではさらにリンパ系およびミエロイド系樹状細胞を分離した検討も行った。ナノ粒子の樹状細胞への取りこみはFITCを内包した粒子の取りこみ率をフローサイトメトリーで検討することにより最適な粒子サイズを明らかにした。

(4) 細胞外遺伝子操作による修飾ペプチド合成に先立って、アミノ基を修飾すると比活性がどのように変化するかについて以下の予備検討をした。G-CSFに緩和な条件で化学修飾をおこない、生物活性を調べることで修飾可能な部位を調べた。G-CSFはpH3から8の水溶液中では安定で活性の低下は見られない。中性付近での緩和な条件を考慮すると、システインが最適であるがG-CSFはフリーのシステインが1個である。初めにシステインの修飾を試みた。G-CSF溶液にヨード酢酸あるいはヨードアセトアミドを加え37℃でインキュベーションした。修飾の確認は逆相HPLCでおこなった。次にアミノ基の修飾を試みた。G-CSFにはリジン残基が4個存在する。したがって修飾されるアミノ基はNH₂末端を含め5個ある。アミノ基を緩和な条件で修飾することができる方法のひとつとしてスクシニル化をおこなった。G-CSF溶液に無水コハク酸を固形で加え、37℃でインキュベーションし経時的に適量ぬきとり、反応の進行を逆相HPLCと電気泳動でモニターした。スクシニル化G-CSFは紫外吸収スペクトル測定、G-CSFのポリクロール抗

体とモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA、マウスの白血球増加の薬理効果を見ることによりその性質を調べた。マウスを用いた薬効の確認は次のような製剤化を行ない皮下に G-CSF を投与し、その後の白血球数を測定することによりおこなった。最終濃度が 0.5mg/mL G-CSF、20mM 酢酸亜鉛、10mg/mL ヒト血清アルブミン、1mg/mL コンドロイチン硫酸となるように混ぜ、沈殿を形成させ、遠心分離により沈殿を集め、上清を捨てた後 5% マンニトール、20mM 酢酸亜鉛溶液で再分散させ製剤とした。作製した製剤を G-CSF が 5mg/kg となるようにマウス (ddY 系) の皮下に投与した。投与後 1 日毎に同時刻に採血をおこない血球測定盤にて白血球数を測定した。白血球数の増加により G-CSF の活性を確認した。

(5) 以下については未だ予備実験を行っている段階である。細胞外遺伝子操作によるタンパク合成法としては理化学研究所横山博士らの方法 (A 法)、岡山大学穴戸博士らの方法 (B 法)、東京大学上田博士らの方法 (C 法) などがある。これらの方法を取り入れて修飾生理活性ペプチドを作成するには以下の順法を考える。

細胞外遺伝子操作によるレシチン修飾生理活性ペプチドの作製



A 法を取り入れた場合、目的ペプチドの遺伝子について発現の確認されている cell line から抽出した mRNA から RT-PCR によって cDNA を合成した後、レシチン化アミノ酸を導入する部分のコドンに横山、平尾らにより開発された XY 塩基を含むコドンに変換し、T7-RNA polymerase プロモーター下流に連結する。例えば phenyl 基を持つアミノ酸の側鎖ベンゼン環の 4 位に I を導入した非天然アミノ酸を合成しておく。3' 末端の dCdA を欠き、XY 塩基をアンチコドン部位に含む tRNA を T7-RNA polymerase によって合成し、この tRNA を I を導入した非天然アミノ酸とのアミノアシル pdCpA とを T4-RNA Ligase により連結させ、コドン変異型アミノアシル tRNA を作製する。発現遺伝子とこの tRNA を in vitro 翻訳系 (日本ロシュ (株) RTS500) に入れ、ペプチド合成を行う。ここで I-Phe 導入ペプチドが作製する。I-Phe をレシチン誘導体と反応させ置換することにより PC 化ペプチドを得る。

B 法を取り入れた場合、同様に cDNA を合成し、レシチン化アミノ酸を導入する部分のコドンに拡張した 4 塩基、あるいは 5 塩基の配列で point mutation し、T7-RNA polymerase プロモーター下流に連結する。3' 末端の pdCdA を欠く酵母 tRNA のアンチコドンに 4 塩基あるいは 5 塩基に対応するアンチコドンに置き換え、pdCpA をレシチン化アミノ酸によりアミノアシル化し、T4-RNA Ligase により上記の tRNA と連結させ、コドン変異型アミノアシル tRNA を作製する。cDNA とこの tRNA を in vitro 翻訳系に入れ、ペプチド合成を行う。これによってレシチン化ペプチドを得る。

C法を取り入れた場合、同様にcDNAを合成し、レシチン化アミノ酸導入部位のコドンを終結コドンに変える。pdCdAにレシチン化アミノ酸を結合させ、3'末端のpdCdA欠損サブレッサーtRNAにT4-RNA Ligaseにより連結させる。cDNAとこのtRNAをin vitro翻訳系(ポストゲノム研究所PURE system)に入れ、タンパク合成を行う。この時、ペプチド乖離因子を系から除き、サブレッサーtRNAにより非天然アミノ酸がペプチド鎖に取り込まれるようにする。これによりレシチン化ペプチドを得る。

3 & 4. 研究成果と考察

(1) In vitroの比活性においてBDNFに平均2分子のレシチンが結合しているPC-BDNFのBAF trk B細胞に対する細胞増殖活性は非修飾BDNFと同程度であった。多数のレシチンが結合したBDNFは細胞増殖活性が顕著に減少した。これは多数のレシチン分子がBDNFに結合することによって立体的障害によりBDNFが細胞表面のBDNFのレセプターと結合しにくくなることが原因と考えられた。それゆえ以後の検討はレシチン結合数平均2分子のPC-BDNFを用いて行った。レプチン受容体欠損肥満マウスであるC57BL/Ksj-db/db mice(♂, 7週齢)は食欲抑制欠損により肥満し血糖値の上昇を招く。このマウスにおいてBDNFが食欲抑制作用を示しその作用は中枢神経系を介したものであることが示唆されている。そこでこのマウスを用いてPC-BDNFの薬理活性を検討した。その結果、摂食抑制作用、血糖値低下作用、体重減少作用においてレシチン化BDNFは非修飾BDNFより強力な薬理効果を示した。用量から推定するとPC-BDNFは非修飾BDNFより20倍も強力であった。その薬理効果の増強が何に起因するかを検討するために皮下投与後の血漿BDNF濃度を測定し非修飾BDNF投与群と比較した。その結果は非修飾BDNFに比してPC-BDNF投与群のほうが血漿BDNFが低く、薬理効果の増強が血中半減期の延長によるものではないことが判明した。今後どのような機序でPC-BDNFの薬理効果が増強しているのかを検討する予定である。BDNFは他の神経栄養因子とともに神経再生においても重要な役割を果たしていると考えられるが、PC-BDNFは神経再生医療をはじめ中枢神経系領域の疾患にとって非常に有用性の高い製剤になりうることを期待される。また今後PC-BDNFの評価に脊髄損傷モデル系を使いたいので脊髄損傷モデル系を立ち上げている。

(2) PLGA-インスリン製剤調製の際インスリンをPLGA油相に加えたときインスリンの溶解性は低く、この懸濁油相をそのまま水中乾燥法で調製した製剤を糖尿病動物に投与すると、インスリンバーストが顕著であったが、インスリンPLGA懸濁油相に少量で適量のグリセリンと水を加えることで飛躍的に溶解性が改善した油相が形成された。これを用いて作製した製剤はマイクロカプセル表面のインスリンの局在が抑えられることも明らかとなった。この改良製剤をストレプトゾトシン惹起糖尿病ラットに皮下投与(250U/kg)を行うと、注目すべきことにインスリンの局在を反映し初期のバーストが抑えられ、しかも安定した血中インスリン濃度(30-100 μ U/ml)が長期間持続した。この製剤を糖尿病モデルラットに投与すると、一定レベル以上のインスリン濃度が維持されている間は正常動物とほぼ同様の速度での体重増加も得られた。また全身症状の改善が著しく、インスリン徐放型製剤の有用性が確信できた。キャリアーとして選択したPLGAは生分解性ポリマーであり、すでにLH-RH誘導體(酢酸リュープロレリン徐放性注射剤)キャリアーとして広く臨床で使われており安全性については問題がない。PLGA分子量や構成成分であるポリ乳酸・ポリグリコール酸の比またマイクロカプセルの粒子径を選定することで長期にわたる薬剤放出パターンを制御できる利点をもつ。一般的にPLGAを用いたマイクロカプセルを生体に投与すると、投与初期に内包する薬剤を一過性に放出し、高い血中濃度を示す(初期バースト)が、インスリンのように十分に制御された放出が要求される薬剤では、この初期バーストを解決しなければ実用化は望めない。初期バーストが抑えられ、安定した血中インスリン濃度が長期間持続する本製剤は糖尿病患者における基礎分泌インスリン補充療法への応用が期待される。さらにより厳密な安定したインスリン放出をめざすには、LA/GA比またマイクロカプセルの粒子径の検討が必要である。また根本的にPLGAの加水分解を制御する新たな方法を見つけることができれば、インスリンだけでなく他の徐放製剤にも応用できる可能性が高い。さらにグリコサミノグリカンと亜鉛イオン、塩基性ペプチドであるbFGFについては結合体を作製しラットに皮下投与すると皮下に長時間とどまることが確認され、血管新生作用の増強がみられたことから塩基性ペプチドの局所滞留性を獲得することが可能となり、PLGA徐放製剤とともに再生医療における成長因子徐放性付加スキャホールドへの有用性が期待される。

(3) 10週令の雌Balb/cマウス(n=5)の骨髄および脾臓より幹細胞を分離した。脾臓からは0.38%のSca-1陽性細胞が骨髄からは5.1%のCD117陽性細胞が得られた。免疫抗原を種々のサイズの(0.1-10 μ m)粒子に

吸着もしくは封入し、未分化樹状細胞への取り込みを検討したところ500nmの大きさの粒子が細胞質に取り込まれた。今後、マウス *in vivo* 実験を行う。取り込み能の検討の結果をふまえて、試験館内でマウス樹状細胞を粒子化した TT および HA 抗原で刺激したのち同系マウスに戻して抗体価の上昇、細胞障害性 T 細胞の誘導を検討する。また TT-ナノ粒子のマウス皮下投与実験として6週令のメス Balb/c(Th2 タイプ) および C57BL/6(Th1 タイプ) マウスの皮下に5mgの TT 抗原を含有するナノ粒子を接種する。陽性コントロールとしてはアラムを併用した抗原投与を2週間隔で3回行う。投与後48週まで4週間隔で後眼窩静脈より採血して血清を得る。抗 TT 抗体価はゲラチン粒子凝集法により測定して抗体価の上昇と持続を検討する。防御抗体として重要な抗体の IgG2a サブクラスは ELISA で測定する。一方、T細胞の増殖反応は抗原投与後2週および24週後の各マウス群のリンパ節細胞を調整し、サイミジン取りこみにより測定する。一方、アイソトープラベルした TT 抗原を用いたナノ粒子の組織分布も検討する。さらに抗 TT 抗体を用いて経時的に TT-ナノ粒子の樹状細胞への取りこみを皮下組織および胸腺・リンパ節の免疫組織染色により確認する予定である。さらに HA-ナノ粒子のマウス経鼻投与実験として6週令のメス Balb/c(Th2 タイプ) および C57BL/6(Th1 タイプ) マウスを用いて2mgのインフルエンザ HA 抗原(A/PR/8/34)を含有するナノ粒子を噴霧装置を用いて経鼻投与する。2および4週後に採血して得た血清中の HA 特異的 IgG 抗体価を測定すると共に4週後の鼻洗浄液中の HA 特異的抗 IgA 抗体価を測定する。十分な抗体価の上昇が見られる場合はウイルス投与後に肺ホモジェネート中のウイルス価を鶏卵法で測定して、ワクチン前投与によるウイルス中和試験を行う。さらに、脾臓細胞の CTL を行うことにより細胞性免疫の付与効果も検討する。一方、アイソトープラベルした HA 抗原を用いたナノ粒子の組織分布も検討する。さらに抗 HA 抗体を用いて経時的に HA-ナノ粒子の樹状細胞への取りこみを呼吸器組織および胸腺・リンパ節の免疫組織染色により確認する。

(4)細胞外遺伝子操作による修飾生理活性ペプチドの作製の予備検討として G-CSF のスクシニル化をおこない構造と活性を検討した結果、スクシニル化により G-CSF が大きな構造変化を起こしていないことが判った。そこでスクシニル化 G-CSF の生物活性に関しての動物実験によりチェックをおこなった。G-CSF は顆粒球前駆細胞に作用し顆粒球の増殖と分化を促進する因子であり、結果として好中球や単球を増加させる。その効果は血中の白血球数の増加をみることにより確認できる。先に方法で示したように我々が以前に開発した製造法により修飾、非修飾 G-CSF を製剤化し、マウス(DDY系)に投与後、白血球数を測定し、その効果を比較することにより、スクシニル化が G-CSF の生物活性に与える影響を検討した。その結果、製剤投与後非修飾の G-CSF はマウス血中の白血球数を増加させ数日間効果を持続していたが、スクシニル化した G-CSF はまったく生物活性を示さないことがわかった。このことは、スクシニル化が集中している G-CSF の NH₂ 末端から始まる α -ヘリックス部分に直接 G-CSF レセプターとの結合と関与している部分が存在することを示唆している。この実験結果は、無細胞系での遺伝子発現で G-CSF のどの部位に修飾を入れると G-CSF の生物活性を保持できるかを考える上で、有用な知見を与えてくれたと考える。細胞外遺伝子操作による修飾ペプチドの作成は細胞形では合成が不可能な細胞毒性をもつペプチドや非天然アミノ酸を含むペプチドの合成も可能である。この方法は事前に修飾部位の特定が可能であることから医薬品として修飾活性ペプチドを作製する方法として新規で画期的な技術となると考えられ、今後力を入れて検討してゆきたいと考えている。

5. まとめ

BDNF にレシチン誘導体を共有結合したレシチン化 BDNF (PC-BDNF) を作製し検討した。PC-BDNF は *in vitro* の比活性においては非修飾 BDNF と同等であったが、レプチン受容体欠損糖尿病肥満マウスである db/db マウスの摂食量抑制、体重減少、血糖値低下作用において、PC-BDNF 皮下投与は非修飾 BDNF より著明に強力な(約20倍)薬理効果を示した。投与後の BDNF のマウス血漿 BDNF 濃度推移は PC-BDNF 投与群と非修飾 BDNF 投与群ではむしろ非修飾 BDNF 投与群のほうが高い傾向が見られ、血中半減期の延長による薬理効果の増強ではないことが示唆された。レシチン化の技術がペプチドの神経系へのターゲットに利用できる可能性が示唆され、BDNF 以外の NGF、GDNF、NT-3 などへも応用でき、神経再生において有用性の高い技術となると考えられる。一回の投与で長期にわたって基礎分泌レベルのインスリン補充が保証できる臨床応用可能な製剤をめざし検討した結果、初期のバーストを抑え、かつインスリンが持続的に長期間(約10日間)ほぼ安定に放出する PLGA-インスリン徐放製剤の作製が可能となった。これらの技術は、インスリンだけでなく他の生理活性ペプチドにも応用できると考えられ再生医療におけるスキャホールドへの応用も興味深い。マウス骨髄および脾臓から樹状細胞採取を確立し、未熟樹状細胞による粒子化抗原

の取り込み（マクロピノサイトーシスと考えられる）を確認できた。今後さらに効率的な抗原提示を確認するために *in vivo* での実験をすすめるとともにナノ粒子の局在も検討する予定である。細胞外遺伝子操作による修飾ペプチド作製については未だ予備検討中であるが今後はレシチン化 BDNF をターゲットとしてすすめる予定である。以上のように臨床応用に向けて可能性のある新規 DDS の確立を推進している。

6. 研究発表

Takenaga M, Yamaguchi Y, Kitagawa A, Ogawa Y, Mizushima Y, Igarashi R: A novel sustained-release formulation of insulin, which initial rapid release is dramatically attenuated. The 28th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials (San Diego, USA)

(2001. 6月)

武永美津子 山口葉子 北川晶 小川泰亮 水島裕 五十嵐理慧:初期バーストを抑えた PLGA インスリン徐放製剤. 第 17 回日本 DDS 学会 ワークショップ

(大阪) (2001. 7月)

山口葉子 武永美津子 北川晶 五十嵐理慧 水島裕 小川泰亮:インスリン PLGA 徐放マイクロカプセルのインスリン初期放出を抑制する添加剤の効果. 第 17 回日本 DDS 学会 (大阪) (2001. 7月)

Takenaga M, Yamaguchi Y, Kitagawa A, Ogawa Y, Mizushima Y, Igarashi R: A novel sustained-release formulation of insulin, of which initial rapid release is dramatically attenuated, would release patients from multiple treatments. The 4th International Symposium on Polymer Therapeutics

(Nara) (2001. 7月)

武永美津子 山口葉子 北川晶 小川泰亮 水島裕 五十嵐理慧:基礎分泌インスリン補充療法をめざした PLGA インスリン徐放製剤投与後の血中動態第 22 回日本臨床薬理学会(横浜) (2001. 12月)

Takenaga M, Yamaguchi Y, Kitagawa A, Ogawa Y, Mizushima Y, Igarashi R: A novel sustained-release formulation of insulin, of which rapid rerelease is dramatically attenuated, would release IDDM patients from multiple treatments. The 6th US-Japan DDS symposium (Maui, USA) (2002, 12月)

Igarashi R, Nakayama T, Matsumoto K, Kitagawa A, Yamaguchi Y, Takenaga M, Nakagawa T, Taiji M, Morizawa Y, Nakayama C, Mizushima Y. A novel delivery system for brain-derived neurotrophic factor (BDNF). 6th US-JAPAN Symposium on drug delivery systems 16-21 Dec 2001 Maui

Takenaga M, Yamaguchi Y, Kitagawa A, Ogawa Y, Mizushima Y, Igarashi R. A novel sustained-release formulation of insulin with dramatic reduction in initial rapid release. *J controlled Release*. 79, 2002

Yamaguchi Y, Takenaga M, Kitagawa A, Ogawa Y, Mizushima Y, Igarashi R. Insulin-loaded biodegradable PLGA microcapsules-initial burst release controlled by the hydrophilic additives-*J controlled Release*. In press

武永美津子 山口葉子 北川晶 小川泰亮 水島裕 五十嵐理慧:基礎分泌インスリン補充療法をめざした PLGA インスリン徐放製剤投与後の血中動態. 臨床薬理. 印刷中

7. 知的的所有権の取得状況

なし

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第6分野

医用材料及び製剤設計技術の開発に関する研究

平成14年9月10日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社