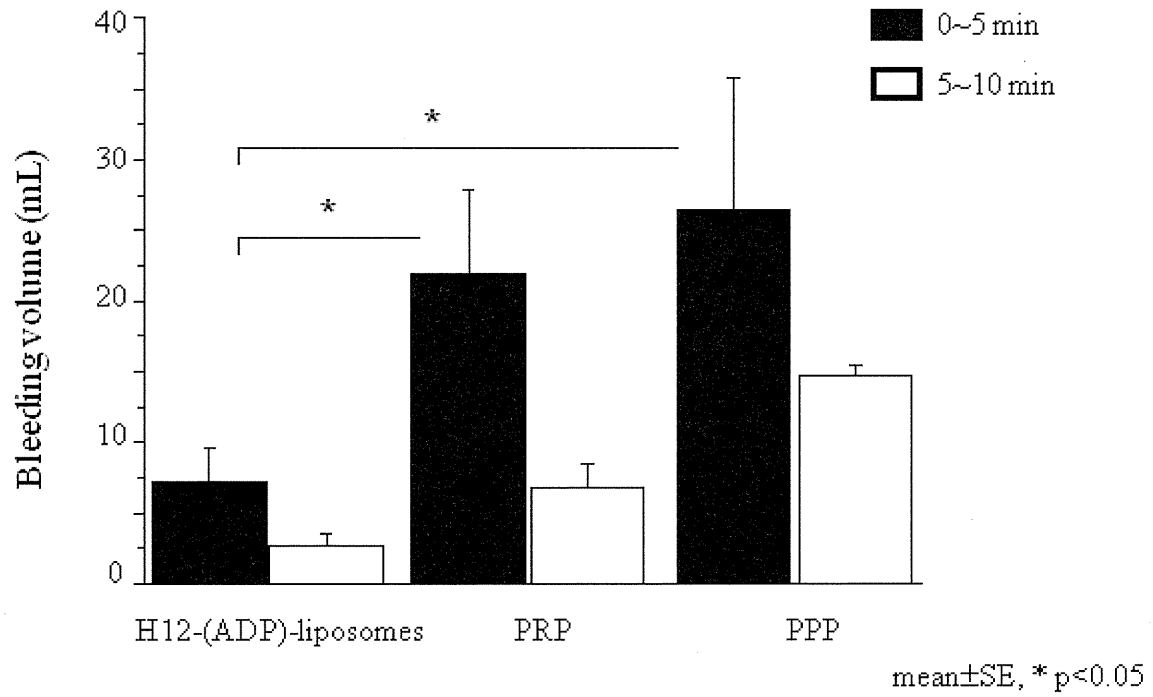


**Fig. 19.** Survivals after penetrating liver injury in acute thrombocytopenic rabbits



**Fig. 20.** Bleeding volume from the liver injured site

分担課題：H12 (ADP) リポソームの体内動態の解析に関する検討

主任研究者 丸山 徹 熊本大学薬学部 医療薬剤学分野 教授

研究要旨

H12 (ADP) liposome は膜表面をデカペプチド ( $^{400}\text{HHLGGAKQAGDV}^{411}$  : H12) で修飾した直径約 250 nm の均一な粒径リン脂質二分子膜より構成される小胞体構造を有する人工血小板代替物であり、実用化が期待されている。しかしながら、医薬品開発の前臨床試験段階において必要な体内動態特性に関する検討はほとんど行われていない。そこで、本研究では、H12 (ADP) liposome の体内動態特性に関する基盤情報の構築を目的に、健常マウス、ラット、ウサギ及びブスルファン誘発血小板減少症モデルラットにおける血漿中濃度推移、分布、代謝及び排泄特性を検討した。加えて、ポリエチレングリコール (PEG) 修飾リポソームの頻回投与時に起こり得る Accelerated Blood Clearance phenomenon (ABC 現象) 誘導の可能性についても検討を行った。

A. 研究目的

H12 (ADP) liposome は血小板輸血にとって替わる血小板代替物として期待され、実用化に向けて様々な分野での研究が進められているが、医薬品開発の前臨床試験段階において必要な体内動態特性に関する検討は行われていない。そのため、動態学的な観点から H12 (ADP) liposome の安全性及び有効性を評価する必要がある。

H12 (ADP) liposome の臨床応用としては、血小板減少状態における予防的投与と、出血時の血小板代替補充療法が想定されている。前臨床段階において、動態学的な観点から H12 (ADP) liposome の安全性及び有効性を評価するには、次の3項目 (i) 血中滞留性、(ii) 代謝・排泄経路の同定、(iii) 生体内蓄積性が挙げられる。

加えて、現在上市されているリポソーム製剤の抗真菌薬 AmBisome (amphotericin B 内封リポソーム製剤) では、健常時と病態時で体内動態が異なることが見出されているため、H12 (ADP)

liposome についても適用疾患時における体内動態の変動を把握することは、臨床開発上、非常に意義深い。

また、近年、ポリエチレングリコール (PEG) 修飾リポソーム製剤を、ある一定期間内に頻回投与した場合、初回リポソーム投与後に脾臓より産生される、抗リポソーム IgM により2回目投与時の半減期が著しく低下する Accelerated Blood Clearance phenomenon (ABC 現象) が報告されている。上述したように、H12 (ADP) liposome は血小板減少状態における予防的投与と、出血時の血小板代替補充療法が想定されているため、臨床使用された場合、頻回投与が予想される。H12 (ADP) liposome 頻回投与時に H12 (ADP) liposome の体内動態が変動すると H12 (ADP) liposome の薬理作用の変動や予期せぬ副作用の原因になり得る可能性は否定できない。従って、H12 (ADP) liposome 頻回投与時における体内動態の詳細な把握は、臨床試験の投与スケ

ジュールを考慮する上での基盤情報となるのは基よりのこと、臨床使用に向けた有用な基礎的情報になることが期待される。

そこで本研究では、H12 (ADP) liposomeの血漿中濃度、分布、代謝及び排泄経路を明らかにすべく、H12 (ADP) liposomeの脂質膜を構成するコレステロール及び内包したADPをそれぞれ<sup>3</sup>H及び<sup>14</sup>Cで標識した<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposomeを用いて、マウス、ラット及びウサギにおける体内動態を評価した。また、適用疾患の一つである薬剤誘発血小板減少症における<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposomeの体内動態について、ブスルファン誘発血小板減少症モデルラットを用い検討した。最後に、H12 (ADP) liposome頻回投与時のABC現象誘導の可能性について明らかにするために、ABC現象の誘導に強く関与する血清中抗H12 (ADP) liposome IgMの産生及びH12 (ADP) liposome構成成分に対する認識部位の検討も行った。

## B. 研究方法

### 1. 動物

ddY系雄性マウス (6週齢、28-30 g) は日本SCLより購入した。Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラット (6週齢、200-220 g) は九動より購入した。New Zealand white (NZW) 系雄性ウサギ (8週齢、2.0-2.2 kg) はバイオテック (株) より購入した。すべての動物は1週間の予備飼育後、実験に使用した。

### 2. 倫理面への配慮

動物実験は、動物の生命を尊重するという基本的観点に基づく動物福祉を護持するための配慮を念頭に置き、熊本大学実験動物倫理委員会のもとに、実験を施行した。

### 3. <sup>3</sup>H ラベル化法

<sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposome もしくはH12 (ADP)

liposome 1 mL と Cholesterol, [1,2-<sup>3</sup>H(N)]- 10 μL を混合し、12 時間室温で放置することにより標識を行った。

### 4. マウスにおける体内動態実験

ddY マウスに<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C- H12 (ADP) liposome を 10 mg lipid/kg で尾静脈内投与した。規定時間毎に下大静脈から採血を行い、遠心分離により血漿を採取した。得られた血液、血漿を、soluene-350 /イソプロピルアルコール (1 : 1) 混合液で可溶化後 (50°C, 24 時間)、過酸化水素で脱色し、液体シンチレーションカクテル (Hionic-Fluor) を加え、放射活性を測定した (LSC-5121, アロカ)。摘出した臓器は、秤量した後、その一部を soluene-350 で可溶化後 (50°C, 24 時間)、血液と同様の処理により放射活性を測定した。尿・糞中への排泄については、代謝ゲージに入れたマウスより経時的に採尿・採糞を行い、その一部を臓器と同様の処理により放射活性を測定することで評価した。

### 5. ラットにおける体内動態実験

SD ラットに<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C- H12 (ADP) liposome を 10 mg lipid/kg の用量で尾静脈内投与した。規定時間毎に尾静脈から採血を行った。以後の操作は、マウスの血液及び血漿、臓器、尿、糞の操作に準じて実験を行った。

### 6. ウサギにおける体内動態実験

NZW ウサギに<sup>3</sup>H- H12 (ADP) liposome を 10 mg lipid/kg の用量で耳介静脈内に投与した。規定時間毎に耳介静脈から採血を行った。以後の操作は、マウスの血液及び血漿の操作に準じて実験を行った。

### 7. ADP 代謝物の同定

ラットより規定時間毎に尿を採取し、得られた尿に 10 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を添加し、遠心分離後、上清

を pH 7.0 に調整した。遠心分離後、0.20 nm の滅菌済フィルター (Dismic-25cs, アドバンテック) で処理を行い、HPLC に注入した。また、ADP 及びアラントインをミリ Q 水、ヒポキサンチン及びキサンチン、尿酸を 0.1 N NaOH にそれぞれ溶解し、終濃度がそれぞれ 100 µg/mL になるように混合したものを標準試料とした。

#### 【HPLC の測定条件】

カラム : LiChroCART 250-4 RP-18  
(Merck Chemicals)  
ポンプ : Waters 2695 (Waters)  
検出器 : Waters 2487 (Waters)  
測定波長 : 220 nm  
流速 : 1.0 mL/min  
移動相 : 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

さらに、HPLC で分離したピーク毎にフラクションコレクターを用いて分取した。得られたフラクションに液体シンチレーションカクテル (Hionic-Fluor) を加え、放射活性を測定した。

### 8. ブスルファン誘発血小板減少症モデルラット における体内動態実験

#### 8-1. ブスルファン誘発血小板減少症モデルラットの作成

SD ラットに PEG (分子量 400) に溶解したブスルファンを 10 mg/kg の投与量で投与 0 日目及び 3 日目に合計 20 mg/kg 腹腔内投与し、10 日間飼育することでブスルファン誘発血小板減少症モデルラットを作成した。

#### 8-2. 血球パラメータの測定

規定日毎に尾静脈から約 500 µL 採血を行い、血球計数装置 (KX-21NV, シスメックス) により血球パラメータを測定した。

#### 8-3. 体内動態実験

ブスルファン誘発血小板減少症モデルラット作成終了後、非絶食、エーテル麻酔下で、<sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposome を 10 mg lipid/kg の用量で尾静脈内投与した。規定時間毎に下大静脈から採血を行い、遠心分離により血漿を採取した。以後の操作は、マウスの血液及び血漿、臓器、尿、糞の操作に準じて実験を行った。

### 9. 抗 H12 (ADP) liposome IgG 及び IgM の検出

SD 系雄性ラットに非絶食、エーテル麻酔下において、H12 (ADP) liposome を 10, 20, 40 mg lipid/kg で尾静脈より投与し、投与後 1~7, 10, 14 日後にヘパリン処理したシリンジで尾静脈から採血後、3000 rpm で遠心分離を行い、血漿を得た。残存 H12 (ADP) liposome を除去するために超遠心処理 (100000 g, 40 min) を行い、その上清を血漿サンプルとした。

96 well プレートに H12 (ADP) リポソーム、1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine (DPPC), cholesterol, 1,5-bis-*O*-hexadecyl-*N*-succinyl-L-glutamate (DHSG) 及び 1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylethanolamine-*N*-PEG (DSPE-PEG) を固定化し、アルブミン溶液で blocking 後、希釈した血漿サンプルを添加し、37°C, 1 時間インキュベートした。wash 後、Horseradish peroxidase-conjugated Goat Anti-Mouse IgG または peroxidase-labeled affinity purified antibody to mouse IgM (µ) を添加し 37°C, 1 時間インキュベートした。*o*-phenylene diamine で発光後、490nm の吸光度で評価した。

## C. 結果

### 1. 健常マウス・ラットにおける H12 (ADP)

#### liposome の体内動態解析

##### 1-1. 血漿中濃度推移

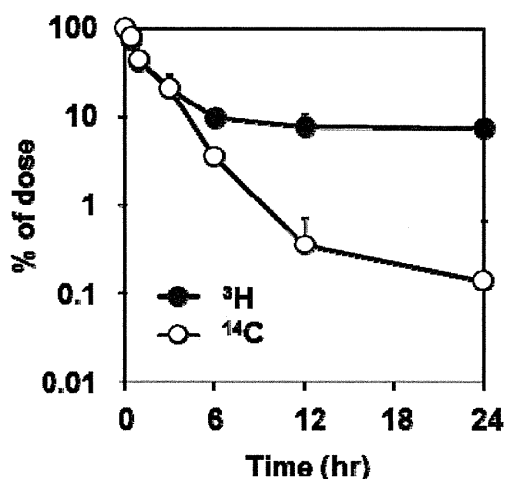
マウスに10 mg lipid/kgの  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposomeを投与した際の血漿中濃度推移について検討した。その結果、 $^3\text{H}$ 及び $^{14}\text{C}$ ラベル体の放射活性は、投与3時間後まではほぼ同様な血漿中濃度推移を示したが、それ以降では両者が解離し始め、 $^3\text{H}$ ラベル体はゆっくりと消失するのに対し、 $^{14}\text{C}$ ラベル体は比較的速やかに消失した (Fig. 1A)。このことから、マウスの場合、投与3時間以降では、リポソームからADPが漏れ出始めている可能性が示唆された。

また、ラットにおいても同様に10 mg lipid/kgの  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposomeを投与し検討を行った結果、 $^3\text{H}$ 及び $^{14}\text{C}$ ラベル体の血漿中濃度は投与24時間後まで同様な推移を示した (Fig. 1B)。このことから、ラットの場合、H12 (ADP) liposomeは投与24時間まで、ほぼADPを内包した状態で血中を循環している可能性が示唆された。

##### 1-2. 臓器分布

マウス及びラットにおける臓器分布を検討したところ、両ラベル体ともに肝臓及び脾臓へ高濃度で分布していた (Fig. 2A~C)。このことから、肝臓及び脾臓がH12 (ADP) liposomeの主要な分布臓器であることが判明した。一方、投与7日後における放射活性を測定したところ、放射活性はほとんど検出されなかった (data not shown)。一般に、リポソーム製剤は肝臓、脾臓等に存在する細網内皮系細胞 (MPS) により捕捉され、分解されることが知られているため、H12 (ADP) liposomeもMPSへの捕捉を介して肝臓及び脾臓に分布し、代謝されていると考えられる。これらの結果より、H12 (ADP) liposomeは血小板代替物として十分な代謝特性を有しており、臓器蓄積性は低いことが確かめられた。

(A)



(B)

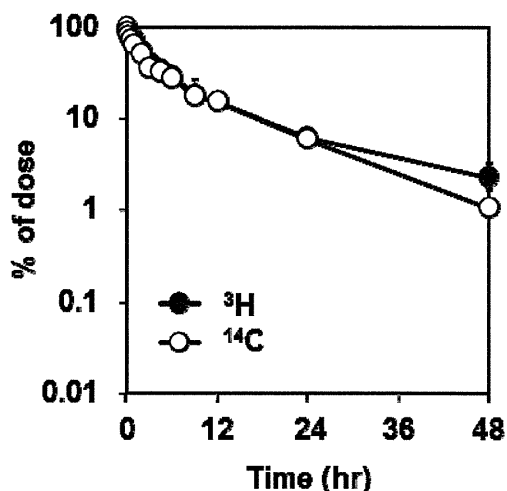


Fig.1

Time course for the plasma concentration of  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposome after i.v. administration at a dose of 10 mg lipid/kg to (A) mice and (B) rats.

Each point ( $^3\text{H}$  : closed circles,  $^{14}\text{C}$  : opened circles) represents the mean  $\pm$  SD (n=5).

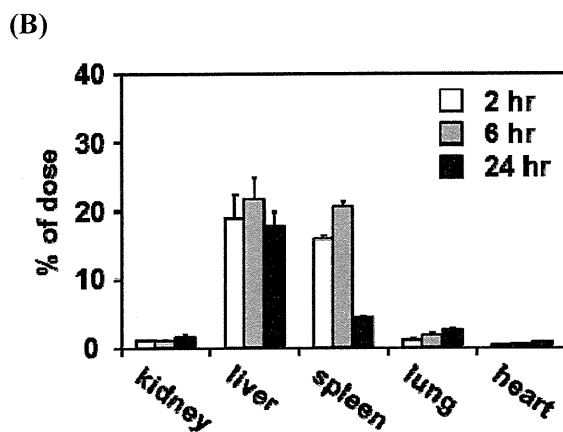
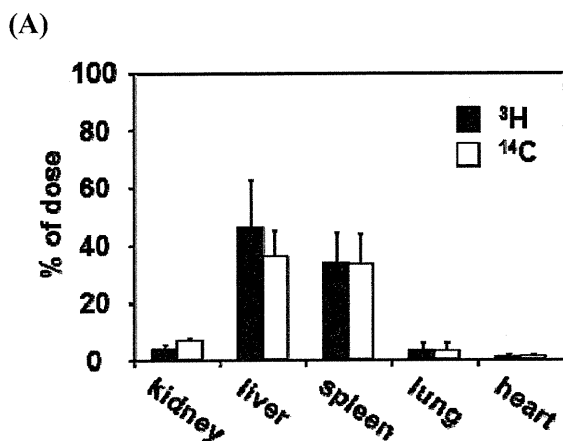
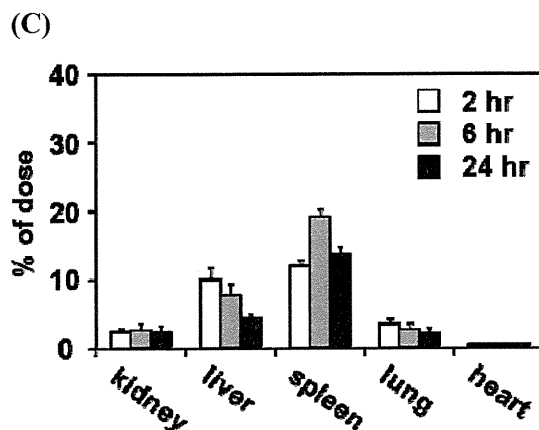


Fig.2

(A) The tissue distribution of radioactivity at 1 hr after i.v. administration of <sup>3</sup>H (closed column), <sup>14</sup>C (open column)-H12 (ADP) liposome to mice.

(B) The tissue distribution of <sup>3</sup>H and (C) <sup>14</sup>C radioactivity at 2 (open column), 6 (gray column), 24 hr (closed column) after i.v. administration of <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposome to rats. Each column represents the mean ± SD (n=5).



#### 1-4. ADPの代謝経路

内因性のADPはヒトにおいて様々な経路を経て最終的に尿酸へと代謝され尿中に排泄されることが知られているが、リポソームに内包されたADPが内因性のADPと同じ代謝経路により排泄されるか否かについては明らかにされていない。そこで、ラットにおいて、H12 (ADP) liposomeに含有されるADPの最終代謝産物の同定を試みた。齧歯類では、ADPは尿酸に変換された後、最終的にアラントインまで代謝されることが知られているため、ラットに<sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposome投与後の尿中のADP、尿酸及びアラントインに加え、中間代謝産物であるヒポキサンチン、キサンチンをHPLCにより測定した。Fig. 4には標準試料及びラットに<sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposome投与6時間後のクロマトグラムを示す。生体内由来の代謝物の混在を排除するために、ピーク毎の放射活性を測定し、H12

(ADP) liposome由来のADP代謝物を同定した。その結果、H12 (ADP) liposome由来のADP代謝物は主にアラントインであった。したがって、ADPはリポソームに内包された状態であっても、生体内に存在するADPと同様、最終代謝産物に代謝され、尿中へ排泄されることが示唆された。

#### 2. ウサギにおける H12 (ADP) liposome の血中動態解析

ウサギにおける<sup>3</sup>H-H12 (ADP) liposomeの体内動態を検討した。Fig.5には投与72時間後までにおけるH12 (ADP) liposomeの血漿中濃度推移を示す。血漿中濃度推移より算出した消失半減期は(t<sub>1/2β</sub>)は約32時間であり、ラットやマウスより短かったものの、分布容積及びブクリアランスはいずれもラット及びマウスよりも大きな値を示した (data not shown).

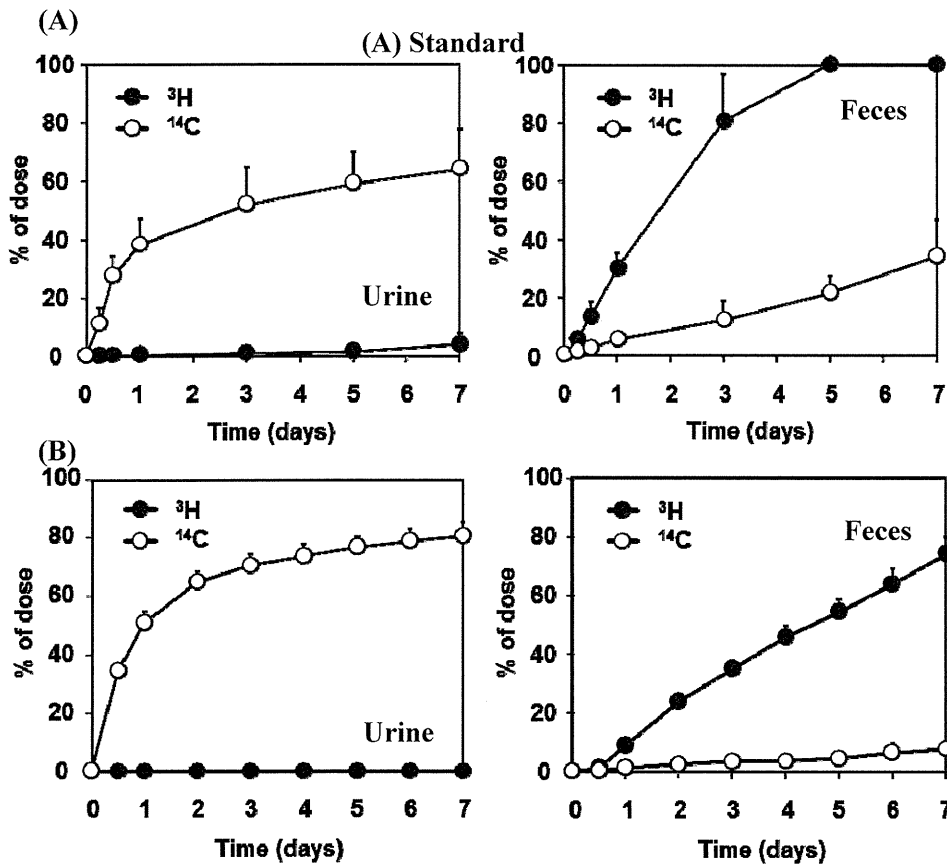


Fig. 3. Time dependent in urine and feces excretion of  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposome after i.v. administration to (A) mice and (B) rats at a dose of 10 mg lipid/kg. Each point ( $^3\text{H}$  : closed circles,  $^{14}\text{C}$  : opened circles) represents the mean  $\pm$  SD (n=5).

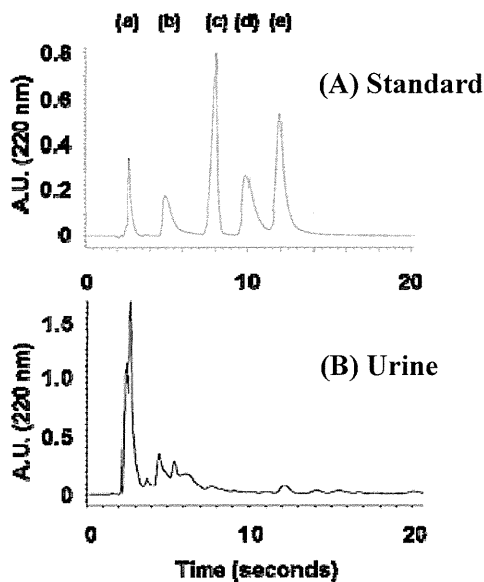


Fig. 4. Chromatogram of standard mixture (A) and urine (B) analyzed by HPLC

The standard peaks are allantoin (a), ADP (b), uric acid (c), hypoxanthine (d) and xanthine (e).

### 3. アニマルスケールアップ

H12 (ADP) liposomeの臨床試験を想定した場合、ヒトにおける半減期の予測、いわゆるアニマルスケールアップは投与設計を行う上で非常に有用である。そこで、マウス、ラット、ウサギにおけるH12 (ADP) liposomeの体内動態の結果から、アロメトリック式を用い、ヒトにH12(ADP) liposomeを10 mg lipid/kgで投与した場合の分布容積及びクリアランスを外挿した (Fig 6). 次いで、これらの値を用いてヒトにおける半減期を予測したところ、約18時間と見積もられた。

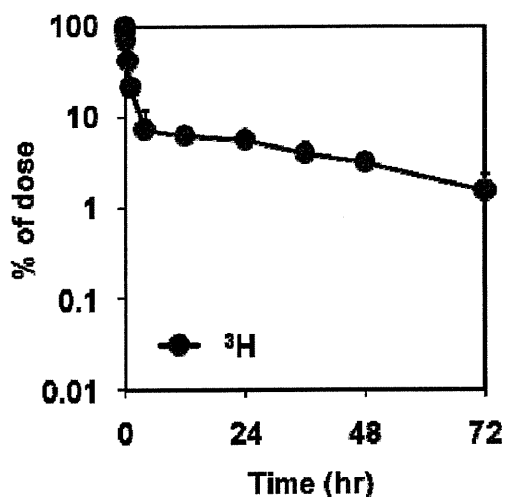


Fig. 5.

Time course for the plasma concentration of  $^3\text{H}$ -H12 (ADP) liposome after i.v. administration at a dose of 10 mg lipid/kg to rabbits

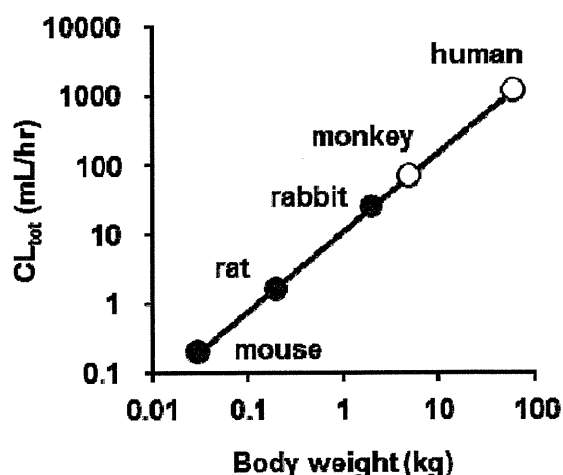
Each point represents the mean  $\pm$  SD (n=4).

#### 4. ブスルファン誘発血小板減少症モデルラットにおける H12 (ADP) liposome の体内動態解析

##### 4-1. ブスルファン誘発血小板減少症モデルラットの作成

抗がん剤であるブスルファンをラットに 5 または 10 mg/kg の投与量で投与 0 日目及び 3 日目に腹腔内投与し (それぞれ合計 10, 20 mg/kg), ブスルファン誘発血小板減少症モデルラットを作成した. その結果, 血小板数は時間の経過とともに減少した. また, この効果には用量依存性が認められ, 投与 20 mg/kg 群でのみ, 血小板減少症と判定される健常時の 25 %以下にまで血小板数が低下した (Fig. 7). 加えて, 血小板以外の血球パラメータにおいても, 投与 20 mg/kg ラットにおいて赤血球 (RBC) の減少に伴いヘモグロビン (Hb), ヘマトクリット値 (HCT) の低下が観察され, 白血球 (WBC) は両投与量においても減少していた (data not shown). これらの結果から, 本病態モデルでは, ブスルファンの副作用である汎血球減少症に伴い, 血小板減少状態

(A)



(B)

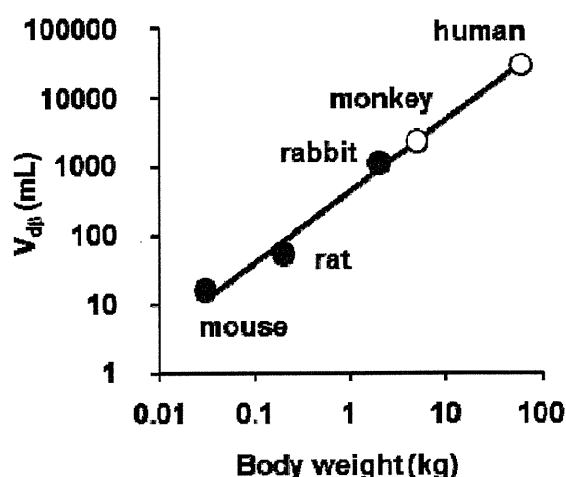


Fig. 6.

Allometric relationships between body weight

(BW) and  $\cdot$  phase distribution volume ( $V_d$ )

(A) or total body clearance ( $CL_{tot}$ ) (B)

The linear regression of the logarithmic values was calculated using the least-squares method (A,  $y=431.17x^{1.0195}$ ,  $r^2=0.9907$ ; B,  $y=10.342x^{1.1471}$ ,  $r^2=0.9999$ ). The extrapolated human (60 kg) and monkey (5 kg) values (opened circle) are also shown.

が引き起こされたものと推察された。また、ブスルファン投与ラットでも、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT), 尿素窒素 (BUN), 血清クレアチニン (CRE) の有意な変化は確認されなかったことから (data not show)、ブスルファン投与により H12 (ADP) liposome の体内動態に重要な役割を担う肝臓・腎臓の障害等はないことが確認された。

これらの結果に基づき、以後の実験にはブスルファン 20 mg/kg 投与により惹起された血小板減少症モデルラットを用いた。

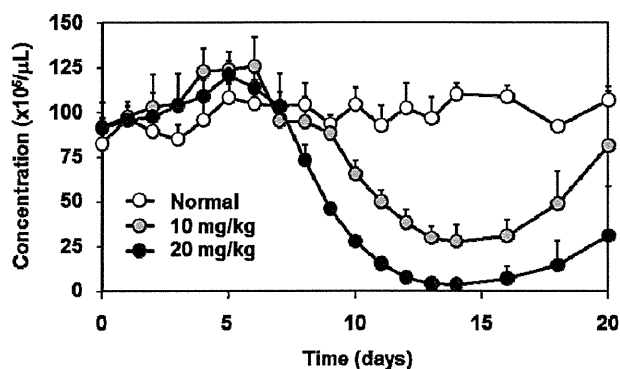


Fig.7. Time course for platelet counts after i.p. administration of busulfan to rats.

Each point represents the mean  $\pm$  SD (n=3-4).

#### 4-2 体内動態

##### 4-2-1. 血漿中濃度推移

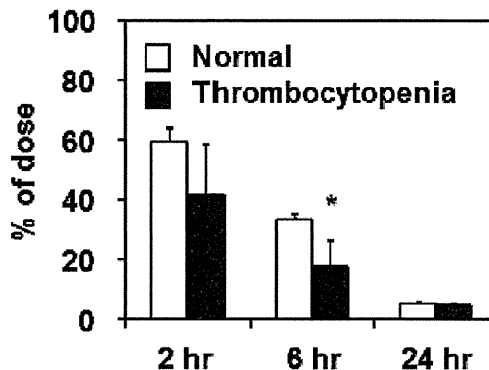
$^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposome を尾静脈内投与後における血小板減少症モデルラットの血漿中濃度を検討したところ (Fig. 8)、血小板減少症モデルラットでは、健常ラットと比べて、血漿中濃度の減少傾向が観察された。

##### 4-2-2. 臓器分布

次に、血小板減少症モデルラットにおける肝臓及び脾臓への  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposome の臓器分布を検討した結果、健常ラットと比べて、血

小板減少症モデルラットでは、 $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ラベル体ともに肝臓への分布が増大し (Fig. 9A, B), 逆に、脾臓への分布は減少していた (Fig. 9 C, D).

(A)



(B)

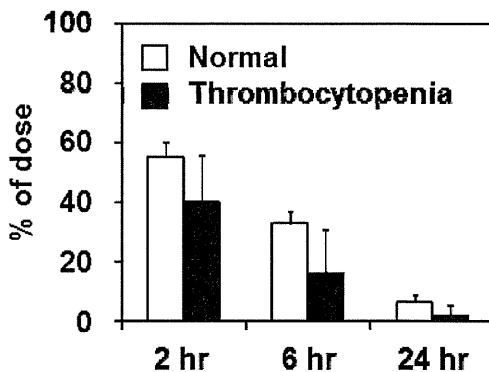


Fig. 8.

Plasma concentration of  $^3\text{H}$  (A) and  $^{14}\text{C}$  (B) at 2, 6 and 24 hr after i.v. administration of  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -H12 (ADP) liposome to normal (opened column) and thrombocytopenic (closed column) rats.

Each column represents the mean  $\pm$  SD (n=4).

\*:p<0.05 vs. Normal.

##### 4-2-3. 排泄経路

さらに、排泄過程を検討したところ、健常ラットに比べて病態ラットでは、尿及び糞中への排泄が促進していた (Fig. 10).

## 5. ABC現象に関する検討

### 5-1. 抗 H12 (ADP) liposome IgM の検出

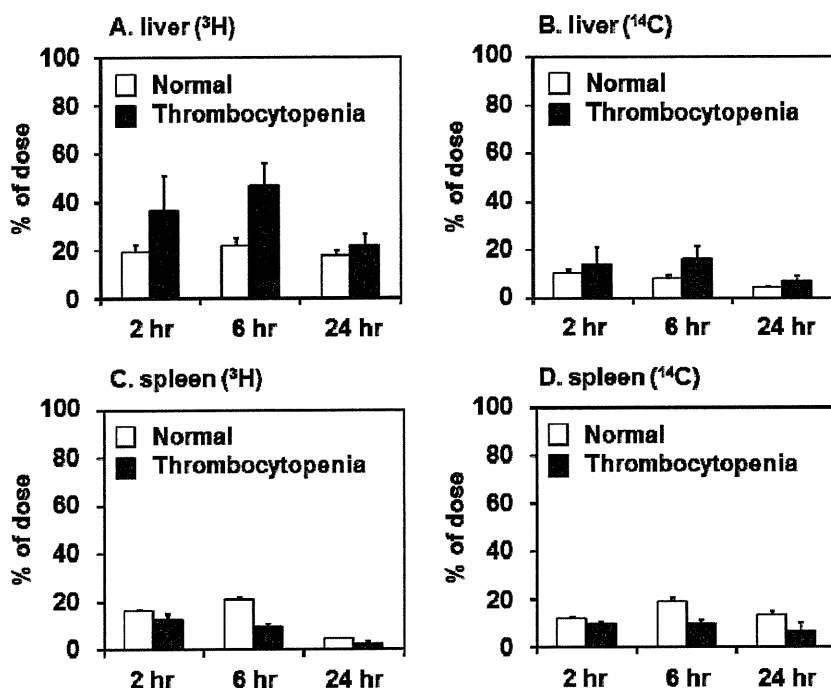


Fig. 9.

The tissue distribution of <sup>3</sup>H (A) and <sup>14</sup>C (B) to liver and <sup>3</sup>H (C) and <sup>14</sup>C (D) to spleen after i.v. administration of <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposome to normal (opened column) and thrombocytopenic (closed column) rats.

Each column represents the mean ± SD (n=4).

SD系雄性ラットに、H12 (ADP) liposomeを10, 20, 40 mg lipid/kg 後の抗H12 (ADP) liposome IgG及びIgM産生の確認を行った。その結果、抗H12 (ADP) liposome IgGの産生については誘導効果を見出すことはできなかった。対照的に、抗H12 (ADP) liposome IgMの産生は投与3日目より確認され始めた。また、IgMの産生は7日目に最大となり、14日目まで確認された。したがって、H12 (ADP) liposome 10 mg lipid/kgを繰り返し投与した場合、ABC現象が誘導される可能性が示唆された。(Fig. 11)。

#### 5-2. 抗H12 (ADP) liposome IgMの認識部位

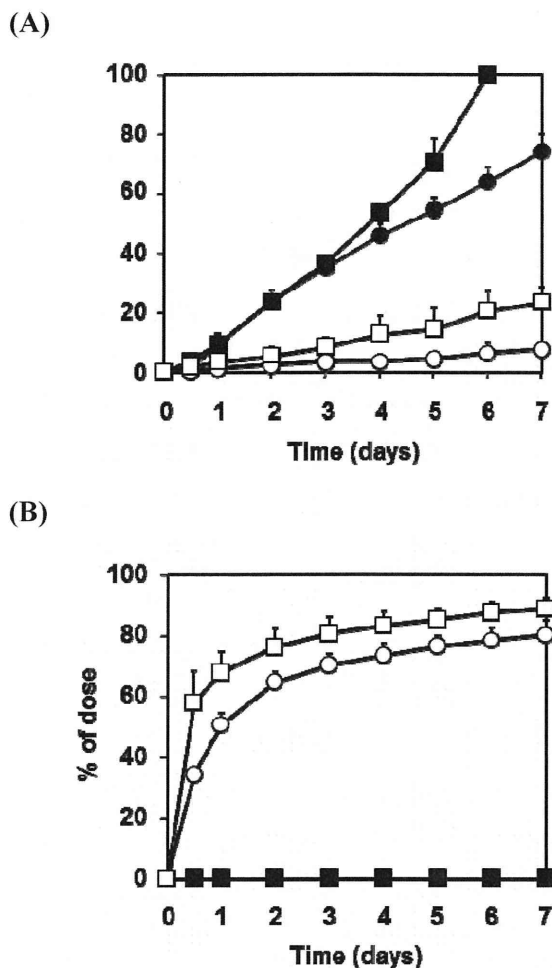
次に、抗H12 (ADP) liposome IgMの認識部位についての確認を脂質膜構成成分別 (DPPC, cholesterol, DHSG, DSPE-PEG) に検討を行った。

その結果、投与量に関係なく、認識部位はDSPE-PEGであることが確認された。興味深いことに、40 mg lipid/kg投与群においては投与初期よりDHSGを認識することが明らかとなった (Fig. 12)。

#### D. 考察

本研究では、血小板代替物 H12 (ADP) liposomeの体内動態を解析し、動態学的な観点から安全性及び有効性を評価すべく、まず、H12(ADP) liposomeの脂質膜を構成するコレステロールを<sup>3</sup>H標識、並びに内包したADPを<sup>14</sup>C標識した<sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposomeを作製し、健常マウス、ラット及びウサギにおける血漿中濃度推移、分布、代謝及び排泄特性を詳細に解析した。さらに、臨床使用を想定し、血小板減少症モデルラットにおける体内動態を評価した。

<sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C-H12 (ADP) liposomeを10 mg lipid/kgを健常マウス及びラットに投与した際の血中動態を解析した結果、マウスでは、投与後3時間以降において<sup>3</sup>H及び<sup>14</sup>Cラベル体の血漿中濃度推移に解離が生じており、ADPの漏れ出ている可能性が示唆された一方で、ラットでは、投与24時間後においても両放射核種の血漿中濃度推移に大きな違いが認められずADPが漏れ出ている可能性は低いと思われた。このようなラットとマウスにおける脂質膜とADPの血中濃度推移が異なる原因は不明であるが、ヒトにおける臨床応用



**Fig. 10.** Time dependent in urine (A) and feces (B) excretion of  $^3\text{H}$  (closed),  $^{14}\text{C}$  (opened)-H12 (ADP) liposome after i.v. administration to normal (circle) and thrombocytopenia (square) rats at a dose of 10 mg lipid/kg

Each point represents the mean  $\pm$  SD (n=4).

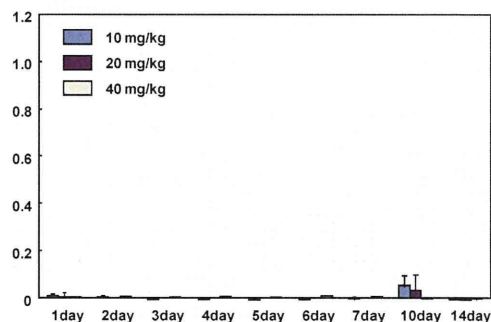
を考える上で、ADPの放出性は重要な視点であり、今後、原因究明の必要性があると思われる。また、他のリポソーム製剤は肝臓、脾臓などの細網内皮系組織 (MPS) に存在する食細胞によって取り込まれることから、H12 (ADP) liposomeにおいても同様な経路で肝臓及び脾臓に分布したものと推察された。さらに、H12 (ADP) liposomeの排泄過程の検討結果から、マウス、ラットともに脂質成分は糞中へ、ADPは尿中へ主

に排泄されること、また投与7日後にはほぼ全量が体外に排泄されることが明らかとなった。加えて、ADPの代謝経路を検討した結果、齧歯類におけるADPの最終代謝産物であるアラントインに代謝されていたことより、内因性のADPと同様の経路で代謝排泄される可能性が高いと思われる。

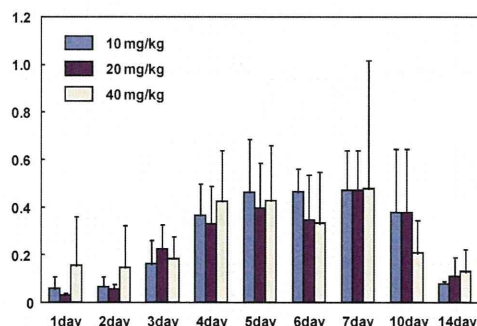
また、マウス・ラット・ウサギで求めた体内動態パラメータを用い、アロメトリック式を作成し、ヒトにおけるH12 (ADP) liposomeの消失半減期の予測は、約18時間と算出された。この結果から、H12 (ADP) liposomeは、外科手術や大量出血時などにおける緊急時だけでなく、血小板減少状態に対する予防的な使用も可能ではないかと推察される。

ブスルファン投与により作成した血小板減少

**(A) IgG**

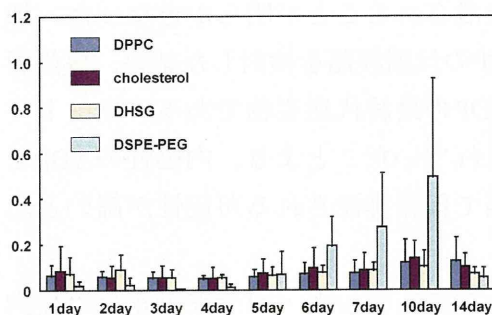


**(B) IgM**

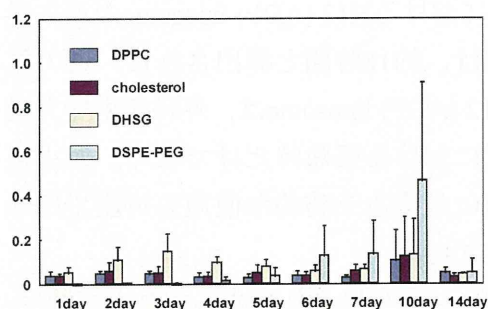


**Fig.11** Production of serum (A) IgG and (B) IgM against H12 (ADP) liposome after H12 (ADP) liposome injection at a dose of 10, 20 or 40 mg lipid/kg.

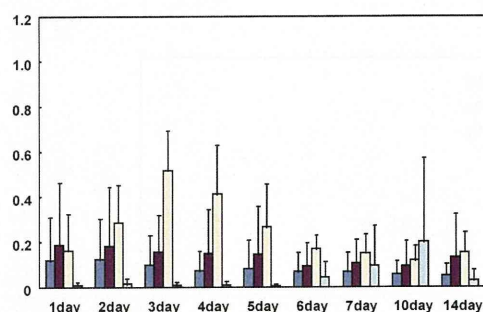
### (A) 10 mg lipid/kg



### (B) 20 mg lipid/kg



### (C) 40 mg lipid/kg



**Fig. 12.**  
The recognition site of serum IgM against H12 (ADP) liposome after H12 (ADP) liposome injection at a dose of (A) 10, (B) 20 or (C) 40 mg lipid/kg.

症モデルラットを用いて H12 (ADP) liposome の体内動態を検討したところ、健常ラットと比べ血漿中濃度の低下、肝臓への取り込み増大が観察された。その要因として、血小板減少に伴い Kupffer 細胞による H12 (ADP) liposome の取り込みが促進したことが一つの要因と考えられる。また、血小板減少症モデルラットにおいても、投与 7 日後では臓器にほとんど存在していなか

ったことから、病態時においても H12 (ADP) liposome の代謝・排泄過程の遅延はなく、生体蓄積性は低いものと思われる。

H12 (ADP) liposome の臨床使用を考えた場合、その頻回投与が十分に考えられるため、H12 (ADP) liposome 頻回投与時の体内動態を把握することは重要である。そこで、H12 (ADP) liposome 投与時における ABC 現象誘導に関する検討を行った結果、H12 (ADP) liposome 投与時では ABC 現象誘導の原因とされている抗 H12 (ADP) liposome IgM の産生が確認された。また、その認識部位は脂質膜構成成分の一つである DSPE-PEG であり、40 mg/kg 投与時では DHSG を強く認識した。データは示していないが、H12 (ADP) liposome の脂質膜及び ADP を  $^3\text{H}$  または  $^{14}\text{C}$  標識し、H12 (ADP) リポソームの投与量依存性検討により、投与量 40 mg lipid/kg においても細網内皮系細胞の飽和現象は確認されなかった。そのため、H12 (ADP) liposome に対する IgM が産生されたことは、H12 (ADP) liposome を頻回投与した場合に ABC 現象が誘導される可能性が十分に示唆していると考えられる。

以上、動態学的検討結果より、H12 (ADP) liposome は、1) 血小板代替物として十分な血中滞留性を有していること、2) 主に肝臓及び脾臓に分布すること、3) 脂質膜成分は主に糞中へ、内包された ADP は主に尿中へ排泄されること、4) 臓器蓄積性が低いこと、が判明した。また、血小板減少症状態では、健常時に比べて、若干血中滞留性は低下するものの、代謝・排泄経路や臓器蓄積性は大きく影響されないことが明らかとなった。加えて、H12 (ADP) liposome 投与後には抗 H12 (ADP) liposome IgM の産生が確認され、ABC 現象が起こる可能性が示唆された。これらの結果は、H12 (ADP) liposome の有効性及び安全性の一端を動態学的観点から実証したものであると同時に、今後の H12 (ADP) liposome の臨床開発、特に至適投与設計において有用な基礎資

料になるものと思われる。

## E. 健康危険情報

該当なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kadowaki D, Anraku M, Tasaki Y, Taguchi K, Shimoishi K, Seo H, Hirata S, **Maruyama T**, Otagiri M. Evaluation for antioxidant and renoprotective activity of olmesartan using nephrectomy rats. *Biol Pharm Bull.* 32:2041-5.(2009).

2. Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M. Updates on contemporary protein binding techniques. *Drug Metab Pharmacokinet.* 24:358-64.(2009).

3. Ishima Y, Kragh-Hansen U, **Maruyama T**, Otagiri M. Albumin as a nitric oxide-traffic protein: characterization, biochemistry and possible future therapeutic applications. *Drug Metab Pharmacokinet.* 24:308-17.(2009).

4. Taguchi K, Urata Y, Anraku M, Watanabe H, Kadowaki D, Sakai H, Horinouchi H, Kobayashi K, Tsuchida E, **Maruyama T**, Otagiri M. Hemoglobin vesicles, polyethylene glycol (PEG)ylated liposomes developed as a red blood cell substitute, do not induce the accelerated blood clearance phenomenon in mice. *Drug Metab Dispos.* 37:2197-203.(2009).

5. Tomida H, Fujii T, Furutani N, Michihara A, Yasufuku T, Akasaki K, Maruyama T, Otagiri M, Gebicki JM, Anraku M. Antioxidant properties of some different molecular weight chitosans. *Carbohydr Res.* 344:1690-6.(2009).

6. Taguchi K, Urata Y, Anraku M, Maruyama T, Watanabe H, Sakai H, Horinouchi H, Kobayashi K, Tsuchida E, Kai T, Otagiri M. Pharmacokinetic study of enclosed hemoglobin and outer lipid component after the administration of hemoglobin vesicles as an artificial oxygen carrier. *Drug Metab Dispos.*37:1456-63.(2009).

7. Taguchi K, **Maruyama T**, Iwao Y, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, Tsuchida E, Kai T, Otagiri M. Pharmacokinetics of single and repeated injection of hemoglobin-vesicles in hemorrhagic shock rat model. *J Control Release.* 136:232-9.(2009).

8. Nishi K, Ueno M, Murakami Y, Fukunaga N, Akuta T, Kadowaki D, Watanabe H, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. A site-directed mutagenesis study of drug-binding selectivity in genetic variants of human alpha(1)-acid glycoprotein. *J Pharm Sci.* 98:4316-26.(2009).

9. Iwao Y, Hiraike M, Kragh-Hansen U, Kawai K, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Altered chain-length and glycosylation modify the pharmacokinetics of human serum albumin. *Biochim Biophys Acta.*1794:634-41.(2009).

10. Anraku M, Fujii T, Furutani N, Kadowaki D, **Maruyama T**, Otagiri M, Gebicki JM, Tomida H. Antioxidant effects of a dietary supplement: reduction of indices of oxidative stress in normal subjects by water soluble chitosan. *Food Chem Toxicol.* 47:104-9.(2009).

11. Taguchi K, **Maruyama T**, Iwao Y, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, Tsuchida E, Kai T, Otagiri M. Pharmacokinetics of single and repeated

- injection of hemoglobin-vesicles in hemorrhagic shock rat model. *J Control Release*. 136:232-9. 42.(2009).
12. Nishi K, Ueno M, Murakami Y, Fukunaga N, Akuta T, Kadowaki D, Watanabe H, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. A site-directed mutagenesis study of drug-binding selectivity in genetic variants of human alpha(1)-acid glycoprotein. *J Pharm Sci*. 98:4316-26.(2009).
13. Iwao Y, Hiraike M, Kragh-Hansen U, Kawai K, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Altered chain-length and glycosylation modify the pharmacokinetics of human serum albumin. *Biochim Biophys Acta*. 1794:634-41.(2009).
14. Anraku M, Fujii T, Furutani N, Kadowaki D, Maruyama T, Otagiri M, Gebicki JM, Tomida H. Antioxidant effects of a dietary supplement: reduction of indices of oxidative stress in normal subjects by water-soluble chitosan. *Food Chem Toxicol*.47:104-9.(2009).
15. Taguchi K, Urata Y, Anraku M, Watanabe H, Kawai K, Komatsu T, Tsuchida E, **Maruyama T**, Otagiri M. Superior plasma retention of a cross linked human serum albumin dimer in nephrotic rats as a new type of plasma expander. *Drug Metab Dispos*. 38:2124-9.(2010).
16. Taguchi K, Miyasato M, Ujihira H, Watanabe H, Kadowaki D, Sakai H, Tsuchida E, Horinouchi H, Kobayashi K, **Maruyama T**, Otagiri M. Hepatically-metabolized and -excreted artificial oxygen carrier, hemoglobin vesicles, can be safely used under conditions of hepatic impairment. *Toxicol Appl Pharmacol*. 248:234-41.(2010).
17. Ikuta S, Chuang VT, Ishima Y, Nakajou K, Furukawa M, Watanabe H, **Maruyama T**, Otagiri M. Albumin fusion of thioredoxin--the production and evaluation of its biological activity for potential therapeutic applications. *J Control Release*. 147(1):17-23.(2010).
18. Nishi K, Fukunaga N, Ono T, Akuta T, Yumita N, Watanabe H, Kadowaki D, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Construction of an expression system for human alpha(1)-acid glycoprotein in E. coli: The roles of oligosaccharide moieties in structural and functional properties. *Drug Metab Pharmacokinet*. 25:200-7.(2010).
19. Ishima Y, Hiroyama S, Kragh-Hansen U, **Maruyama T**, Sawa T, Akaike T, Kai T, Otagiri M. One-step preparation of S-nitrosated human serum albumin with high biological activities. *Nitric Oxide*. 23:121-7.(2010).
20. Miyamoto Y, Iwao Y, Tasaki Y, Sato K, Ishima Y, Watanabe H, Kadowaki D, **Maruyama T**, Otagiri M. The uremic solute indoxyl sulfate acts as an antioxidant against superoxide anion radicals under normal-physiological conditions. *FEBS Lett*. 584:2816-20.(2010).
21. Hirata K, **Maruyama T**, Watanabe H, Maeda H, Nakajou K, Iwao Y, Ishima Y, Katsumi H, Hashida M, Otagiri M. Genetically engineered mannosylated-human serum albumin as a versatile carrier for liver-selective therapeutics. *J Control Release*. 145:9-16.(2010).
22. Matsumoto K, Nishi K, Kikuchi M, Watanabe H, Nakajou K, Komori H, Kadowaki D, Suenaga A,

- Maruyama T**, Otagiri M. Receptor-mediated uptake of human alpha1-acid glycoprotein into liver parenchymal cells in mice. *Drug Metab Pharmacokinet.* 25:101-7.(2010).
23. Katayama N, Nakajou K, Ishima Y, Ikuta S, Yokoe J, Yoshida F, Suenaga A, **Maruyama T**, Kai T, Otagiri M. Nitrosylated human serum albumin (SNO-HSA) induces apoptosis in tumor cells. *Nitric Oxide.*22:259-65.(2010).
24. Mera K, Takeo K, Izumi M, **Maruyama T**, Nagai R, Otagiri M. Effect of reactive-aldehydes on the modification and dysfunction of human serum albumin. *J Pharm Sci.*99:1614-25.(2010)
25. Nishi K, Ono T, Nakamura T, Fukunaga N, Izumi M, Watanabe H, Suenaga A, **Maruyama T**, Yamagata Y, Curry S, Otagiri M. Structural Insights into Differences in Drug binding Selectivity between Two Forms of Human {alpha}1-Acid Glycoprotein Genetic Variants, the A and F1\*S Forms. *J Biol Chem.* 286:14427-34. (2011).
26. Furukawa M, Tanaka R, Chuang VT, Ishima Y, Taguchi K, Watanabe H, **Maruyama T**, Otagiri M. Human serum albumin-thioredoxin fusion protein with long blood retention property is effective in suppressing lung injury. *J Control Release.* 154:189-95. (2011).
27. Kugimiya T, Jono H, Saito S, **Maruyama T**, Kadowaki D, Misumi Y, Hoshii Y, Tasaki M, Su Y, Ueda M, Obayashi K, Shono M, Otagiri M, Ando Y. Loss of functional albumin triggers acceleration of transthyretin amyloid fibril formation in familial amyloidotic polyneuropathy. *Lab Invest.* 91:1219-28. (2011).
28. Kaneko K, Chuang VT, Minomo A, Yamasaki K, Bhagavan NV, **Maruyama T**, Otagiri M. Histidine146 of human serum albumin plays a prominent role at the interface of subdomains IA and IIA in allosteric ligand binding. *IUBMB Life.* 63:277-85. (2011).
29. Mera K, Nagai R, Takeo K, Izumi M, **Maruyama T**, Otagiri M. An autoantibody against N(ε)-(carboxyethyl) lysine (CEL): Possible involvement in the removal of CEL modified proteins by macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 407:420-5. (2011).
30. Taguchi K, Ogaki S, Watanabe H, Kadowaki D, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, **Maruyama T**, Otagiri M. Fluid Resuscitation with Hemoglobin Vesicles Prevents Escherichia coli Growth via Complement Activation in a Hemorrhagic Shock Rat Model. *J Pharmacol Exp Ther.* 337:201-8. (2011).
31. Minomo A, Ishima Y, Kragh-Hansen U, Chuang VT, Uchida M, Taguchi K, Watanabe H, **Maruyama T**, Morioka H, Otagiri M. Biological characteristics of two lysines on human serum albumin in the high-affinity binding of 4Z,15Z-bilirubin-IX $\alpha$  revealed by phage display. *FEBS J*, 278:4100-11. (2011).
32. Guo J, Jono H, Kugimiya T, Saito S, **Maruyama T**, Misumi Y, Hoshii Y, Su Y, Shono M, Ueda M, Obayashi K, Otagiri M, Ando Y. Antioxidative effect of albumin on amyloid fibril formation in transthyretin-related amyloidosis. *Amyloid.*18:12-3. (2011).
33. Ishima Y, Yoshida F, Kragh-Hansen U, Watanabe K, Katayama N, Nakajou K, Akaike T,

- Kai T, **Maruyama T**, Otagiri M. Cellular uptake mechanisms and responses to NO transferred from mono- and poly-S-nitrosated human serum albumin. *Free Radic Res.*45:1196-206.(2011) .
34. Tanaka M, Tokunaga K, **Maruyama T**, Otagiri M, Tominaga Y, Itoh K, Matsushita K, Komaba H, Fukagawa M Parathyroidectomy markedly reduces oxidative stress in a patient with primary hyperparathyroidism. *Ther Apher Dial.* 15 :38-41. doi: (2011).
35. Watanabe H, Miyamoto Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Update on the pharmacokinetics and redox properties of protein-bound uremic toxins. *J Pharm Sci.*100:3682-95.(2011).
36. Anraku M, Takeuchi K, Watanabe H, Kadowaki D, Kitamura K, Tomita K, Kuniyasu A, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Quantitative analysis of cysteine-34 on the antioxidant properties of human serum albumin in hemodialysis patients. *J Pharm Sci.* 100:3968-76.(2011).
37. Taguchi K, **Maruyama T**, Otagiri M. Pharmacokinetic properties of hemoglobin vesicles as a substitute for red blood cells. *Drug Metab Rev.*43:362-73.(2011).
38. Tanaka M, Tokunaga K, Komaba H, Itoh K, Matsushita K, Watanabe H, Kadowaki D, **Maruyama T**, Otagiri M, Fukagawa M. Vitamin d receptor activator reduces oxidative stress in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Ther Apher Dial.* 15:161-8.(2011).
39. Miyamoto Y, Watanabe H, Otagiri M, **Maruyama T**. New insight into the redox properties of uremic solute indoxyl sulfate as a pro- and anti-oxidant. *Ther Apher Dial.*15:129-31. (2011)
40. Miyamoto Y, Watanabe H, Noguchi T, Kotani S, Nakajima M, Kadowaki D, Otagiri M, **Maruyama T**. Organic anion transporters play an important role in the uptake of p-cresyl sulfate, a uremic toxin, in the kidney. *Nephrol Dial Transplant.* 26:2498-502. (2011).
41. Taguchi K, Iwao Y, Watanabe H, Kadowaki D, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, **Maruyama T**, Otagiri M. Repeated injection of high doses of hemoglobin-encapsulated liposomes (hemoglobin vesicles) induces accelerated blood clearance in a hemorrhagic shock rat model. *Drug Metab Dispos.*39:484-9.(2011).
42. Taguchi K, Miyasato M, Watanabe H, Sakai H, Tsuchida E, Horinouchi H, Kobayashi K, **Maruyama T**, Otagiri M. Alteration in the pharmacokinetics of hemoglobin-vesicles in a rat model of chronic liver cirrhosis is associated with Kupffer cell phagocyte activity. *J Pharm Sci.*100:775-83.(2011)
43. Iwao Y, Ishima Y, Yamada J, Noguchi T, Kragh-Hansen U, Mera K, Honda D, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Quantitative evaluation of the role of cysteine and methionine residues in the antioxidant activity of human serum albumin using recombinant mutants. *IUBMB Life.* (2012) in press.
44. Ishima Y, Hoshino H, Shinagawa T, Watanabe K, Akaike T, Sawa T, Kragh-Hansen U, Kai T, Watanabe H, **Maruyama T**, Otagiri M.

S-Guanylation of human serum albumin is a unique post-translational modification and results in a novel class of antibacterial agents. *J Pharm Sci.* (2012) in press.

45. Anraku M, Tomida H, Michihara A, Tsuchiya D, Iohara D, Maezaki Y, Uekama K, **Maruyama T**, Otagiri M, Hirayama F. Antioxidant and renoprotective activity of chitosan in nephrectomized rats. *Carbohydrate Polymers.* (2012) in press.

46. Kondo Y, Ishitsuka Y, Kadowaki D, Kuroda M, Tanaka Y, Nagatome M, Irikura M, Hirata S, Sato K, **Maruyama T**, Hamasaki N, and Irie T. Phosphoenolpyruvic acid (PEP), an intermediary metabolite of glycolysis, as a potential cytoprotectant and anti-oxidant in HeLa cells. *Bio Pharm Bull.* (2012) in press.

47. Ishima Y, Chen D, Fang J, Maeda H, Minomo A, Kragh-Hansen U, Kai T, **Maruyama T**, Otagiri M. S-Nitrosated Human Serum Albumin Dimer is not only a Novel Anti-Tumor Drug but also a Potentiator for Anti-Tumor Drugs with Augmented EPR Effects. *Bioconjug Chem*, 23:264-71. (2012).

48. Komori H, Nishi K, Uehara N, Watanabe H, Shuto T, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Characterization of hepatic cellular uptake of  $\alpha 1$ -acid glycoprotein (AGP), part 2: Involvement of hemoglobin  $\beta$ -chain on plasma membranes in the uptake of human AGP by liver parenchymal cells. *J Pharm Sci*, 101:1607-15. (2012).

49. Nishi K, Komori H, Kikuchi M, Uehara N, Fukunaga N, Matsumoto K, Watanabe H, Nakajou K, Misumi S, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M. Characterization of the hepatic cellular uptake of

$\alpha(1)$ -acid glycoprotein (AGP), part 1: A peptide moiety of human AGP is recognized by the hemoglobin  $\beta$ -chain on mouse liver parenchymal cells. *J Pharm Sci*, 101:1599-606. (2012).

(総説、著書など)

1. Chuang VT, Maruyama T, Otagiri M. Updates on contemporary protein binding techniques. *Drug Metab Pharmacokinet.* (2009) 24(4):358-64. Review

2. Ishima Y, Kragh-Hansen U, Maruyama T, Otagiri M. Albumin as a nitric oxide-traffic protein: characterization, biochemistry and possible future therapeutic applications. *Drug Metab Pharmacokinet.* (2009) 24(4):308-17. Review

3. Maruyama T, Kadowaki D. To facilitate the compliance of phosphate binder for the control of hyperphosphatemia in chronic kidney disease patients. *Clin Calcium.* (2009) 19(2):248-52. Review

## 2. 学会発表

1. 田口和明, 浦田由紀乃, 安楽誠, **丸山徹**, 門脇大介, 甲斐俊哉, 小林紘一, 土田英俊, 小田切優樹 人工酸素運搬体へモグロビン小胞体 (HbV) の頻回投与時における体内動態特性 日本薬学会第129年会 2009年3月26日-28日

2. 末永 綾香, 山田 純嗣, 岩尾 康範, 野口大之, 米良 克美, 異島 優, **丸山 徹**, 小田切 優樹 抗酸化能に富むアルブミンの設計: 抗酸化活性に関与するアミノ酸残基の探索 日本薬学会第129年会2009年3月26日-28日

3. 異島 優、赤池孝章、廣山 秀一、澤 智裕、末永 綾香、**丸山 徹**、甲斐 俊哉、小田切優樹 S-ニトロソヒト血清アルブミンの臓器保護作用は、脂肪酸結合により増強される 第9回日本NO学会学術集会 2009年5月8日-9日

4. 平田 憲史郎, 異島 優, 末永綾香, **丸山 徹**

小田切 優樹 組換え型糖鎖付加アルブミンの肝ターゲティング担体としての有用性評価 第9回日本NO学会学術集会 2009年5月8日-9日

5. 小田切 優樹、金子 健一、福田 光、チュアン・トゥアン ギャム、山崎 啓之、川原 浩一、中山 仁、末永 綾香、丸山 徹 イヌアルブミン分子上のケトプロフェン結合部位のトポロジー解析 第9回日本蛋白質科学会年会 2009年5月20日-22日

6. 異島 優、赤池孝章、廣山 秀一、澤 智裕、末永 綾香、丸山 徹、甲斐 俊哉、小田切優樹 S-ニトロソヒト血清アルブミンの臓器保護作用は、脂肪酸結合により増強される 第9回日本蛋白質科学会年会 2009年5月20日-22日

7. 小森 久和、上原 奈緒、菊池 真理、西 弘二、丸山 徹、小田切 優樹  $\alpha$ 1-酸性糖たんぱく質のヘモグロビン  $\beta$  鎖を介した肝細胞取り込み機構の解析 日本薬剤学会第24年会 2009年5月21日-23日

8. 異島 優、陳 迪、末永 綾香、丸山 徹、小田切 優樹 DDS 担体としての組換え型アルブミン二量体の有用性評価 第25回日本DDS学会 2009年7月3日-4日

9. 田口 和明、浦田 由紀乃、安楽 誠、土田 英俊、小林 紘一、丸山 徹、小田切優樹 ヘモグロビン小胞体の体内動態の検討 第25回日本DDS学会 2009年7月3日-4日

10. 異島 優、赤池孝章、廣山秀一、澤 智裕、末永綾香、丸山 徹、甲斐俊哉、小田切優樹 強力な臓器保護剤としての新規 S-ニトロソヒト血清アルブミンの開発 第16回血液代替物学会年次大会 2009年10月15日-16日

11. 田口和明、丸山徹、甲斐俊哉、酒井宏水、土田英俊、小林紘一、小田切優樹 出血性ショックモデルラットにおけるヘモグロビン小胞体頻回投与時の体内動態解析 第16回血液代替物学会年次大会 2009年10月15日-16日

12. 宮里麻友美、田口和明、渡邊博志、酒井宏水、堀之内宏久、土田英俊、小林紘一、丸山徹、小田切優樹 四塩化炭素誘発肝障害モデルラットにおけ

るヘモグロビン小胞体の体内動態の評価 第16回血液代替物学会年次大会 2009年10月15日-16日

13. 小森久和、上原奈緒、西 弘二、児玉 彬、渡邊博志、丸山 徹、小田切優樹  $\alpha$ 1-酸性糖タンパク質のヘモグロビン  $\beta$  鎖を介した肝細胞取り込み機構 第3回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2009年11月14日-15日

14. Takeo K, Mera K, Izumi M, Maruyama T, Nagai R, Otagiri M REACTIVE ALDEHYDES INDUCE STRUCTURAL CHANGE AND DISFUNCTION OF HUMAN SERUM ALBUMIN 第24回日本薬物動態学会年会 2009年11月26日-29日

15. Kugimiya T, Ando Y, Saito S, Watanabe H, Kadowaki D, Jono H, Ueda M, Otagiri M, Maruyama T EFFECT OF ALBUMIN BINDING AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY ON TRANSTHYRETIN AMYLOID FORMATION 第24回日本薬物動態学会年会 2009年11月26日-29日

16. Furukawa M, Ishima Y, Ikuta S, Watanabe H, Otagiri M, Maruyama T IMPROVED THERAPEUTIC EFFECT OF THIOREDOXIN BY FUSION TO HUMAN SERUM ALBUMIN AGAINST OVALBUMIN-INDUCED LUNG INJURY 第24回日本薬物動態学会年会 2009年11月26日-29日

17. Tokunaga K, Maruyama T, Mera K, Watanabe H, Tanaka M, Fukagawa M, Otagiri M IMPACT OF CINACALCET ON SERUM OXIDATIVE STRESS IN SECONDARY HYPERPARATHYROIDISM 第24回日本薬物動態学会年会 2009年11月26日-29日

18. Taguchi K, Urata Y, Anraku M, Watanabe H, Kobayashi K, Tsuchida E, Maruyama T, Otagiri M PHARMACOKINETIC STUDY OF ENCLOSED HEMOGLOBIN AND OUTER LIPID COMPONENT AFTER THE ADMINISTRATION OF HEMOGLOBIN VESICLES AS AN ARTIFICIAL OXYGEN CARRIER 第24回日本薬物動態学会年会 2009年11月26日-29日

19. Hoshino H, Ishima Y, Akaike T, Watanabe H, Otagiri M, Maruyama T THE DETECTION OF

ENDOGENOUS S-GUANYLATED HUMAN SERUM ALBUMIN. 第24回日本薬物動態学会年会 2009年11月26日-29日

20. Komori H, Uehara N, Nishi K, Kodama A, Watanabe H, **Maruyama T**, Otagiri M Involvement of hemoglobin  $\beta$ -chain mediated endocytic pathway in hepatic uptake of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein. 第31回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2009年11月29日-12月1日

21. Yoshida F, Ishima Y, Kai T, Suenaga A, **Maruyama T**, Otagiri M NO Transferring from Poly-S-Nitrosylated Human Serum Albumin is Involved in Cell-Surface Protein Disulfide Isomerase. 第31回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2009年11月29日-12月1日

22. Miyamoto Y, Iwao Y, Watanabe H, Sato K, Otagiri M, **Maruyama T** 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furan propionate, an uremic toxin, increase oxidative stress through over-generation of super-oxide anion radical. 第31回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2009年11月29日-12月1日

23. Minomo A, Ishima Y, Suwa Y, Uchida M, **Maruyama T**, Morioka H Otagiri M Identification of bilirubin binding site in human serum albumin via construction and bilirubin binding screening of a phage library 第32回日本分子生物学会年会 2009年12月9日-12日

24. 宮里麻友美、田口和明、渡邊博志、酒井宏水、堀之内宏久、土田英俊、小林紘一、**丸山徹**、小田切優樹 肝障害モデルラットにおけるヘモグロビン小胞体の体内動態特性 第26回日本薬学会九州支部大会 2009年12月12日-13日

25. Minomo A, Ishima Y, Suwa Y, Uchida M, **Maruyama T**, Morioka H, Otagiri M フェージディスプレイ法を用いたHSA分子上のBR結合部位の探索 第130回日本薬学会年会 (岡山コンベンションセンター, 2010, 3/28-30)

26. 宮本洋平、岩尾康範、渡邊博志、門脇大介、佐藤圭創、小田切優樹、**丸山徹** 尿毒症物質CMPFの酸化ストレス誘発機序解明 第25回日本薬剤学会 (あわぎんホール 徳島県郷土文化会館, 2010, 5/11-14)

27. 大柿滋、田口和明、渡邊博志、小田切優樹、**丸山徹** 一酸化炭素結合型赤血球による肝チトクロームP450の保護効果. 第25回日本薬剤学会 (あわぎんホール 徳島県郷土文化会館, 2010, 5/11-14)

28. Komori H, Watanabe H, Syuto T, **Maruyama T**, Otagiri M  $\alpha$ 1-酸性糖タンパク質によるCD163の発現誘導 第35回西日本薬剤学研究会 (大分, 九重共同研修所, 2010, 9/17-18)

29. Kohei Nagumo, Tsuyoshi Sugimori, Motohiko Tanaka, Yutaka Sasaki, Yu Ishima, Hiroshi Watanabe, Kazuyuki Kubota, Naoyuki Yamada, Masaki Otagiri and Toru Maruyama. CHARACTERIZATION OF STRUCTURE AND FUNCTION OF HUMAN SERUM ALBUMIN IN PATIENTS WITH LIVER DISEASE 日本薬物動態学会 第25回年会 (大宮ソニックシティ, 2010, 10/7-9)

30. 田中 遼大, 古川 真斗, 異島 優, 田中健一郎, 水島 徹, 渡邊 博志, 小田切 優樹, **丸山 徹**. IMPROVED THERAPEUTIC EFFECT OF THIOREDOXIN BY FUSION TO HUMAN SERUM ALBUMIN AGAINST BLEOMYCIN-INDUCED PULMONARY FIBROSIS 日本薬物動態学会 第25回年会 (大宮ソニックシティ, 2010, 10/7-9)

31. 大柿滋、田口和明、渡邊博志、小田切優樹、**丸山徹** 出血性ショックモデルラットにおける一酸化炭素結合型赤血球のチトクロームP450の保護効果. 第17回日本血液代替物学会 (熊本国際交流会館, 2010, 10/18-19)

32. Komori H, Watanabe H, Syuto T, **Maruyama T**, Otagiri M  $\alpha$ 1-acid glycoprotein enhances the expression of hemoglobin scavenger receptor CD163