

Fig. 6
The number of platelet (PLT), white blood cell (WBC) and red blood cell (RBC) in rats treated by dilutional thrombocytopenia. Each point represents the mean \pm S.D. (n=4).

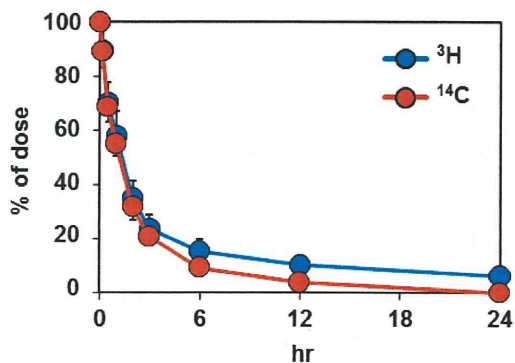


Fig.7
Time course for the plasma concentration of ³H and ¹⁴C radiolabeled H12 (ADP) liposome after intravenous injection at a dose of 10 mg lipids/kg to dilutional thrombocytopenic rats. Each point represents the mean \pm S.D. (n=4).

5-2. 臓器分布

希釈性血小板減少症モデルラットに ³H, ¹⁴C-H12 (ADP) リポソームを投与した際の体内分布特性について健常ラットと比較した。その結果、両放射活性とも投与 2 時間後において健常時と比較して希釈性血小板減少症モデル時では肝臓及び脾臓への取り込み増大が観察された (Fig. 8)。肝臓及び脾臓への分布量の増大に対応して、希釈性血小板減少症モデルラットでは血漿中濃度の低下がみられた。

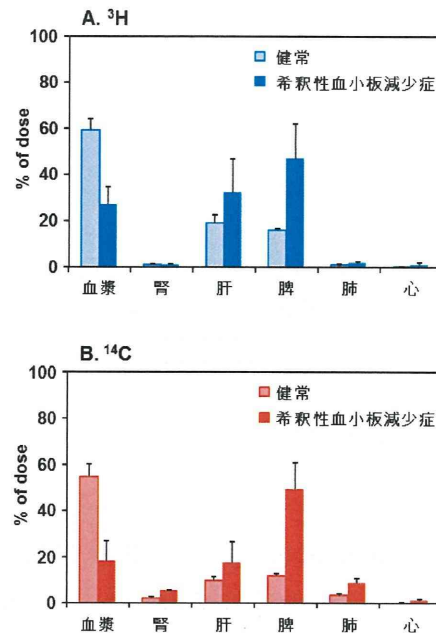


Fig. 8
The tissue distribution of (A) ³H and (B) ¹⁴C radioactivity at 2 hour after an intravenous injection of ³H and ¹⁴C radiolabeled H12 (ADP) liposome at a dose of 10 mg lipids/kg to healthy and dilutional thrombocytopenic rats. Each point represents the mean \pm S.D. (n=4).

5-3. 排泄経路

さらに希釈性血小板減少症モデルラットにおける排泄過程を検討したところ、健常ラットに H12 (ADP) リポソーム投与した時と同様に希釈性血小板減少症モデルラットにおいても ³H は糞中へ、¹⁴C は尿中へ排泄されることが判明した (Fig. 9)。また、H12 (ADP) リポソームは十分な排泄特性を有しており、生体内長期蓄積の可能性は低いと推察された。

6. 希釈性血小板減少症モデルラットにおける抗 H12 (ADP) リポソーム IgM・IgG の検出

健常及びブスルファン誘発血小板減少症モデルラットと同様に希釈性血小板減少症モデルラットに、H12 (ADP) リポソームを投与後の抗 H12 (ADP) リポソーム IgG 及び IgM 産生の確認

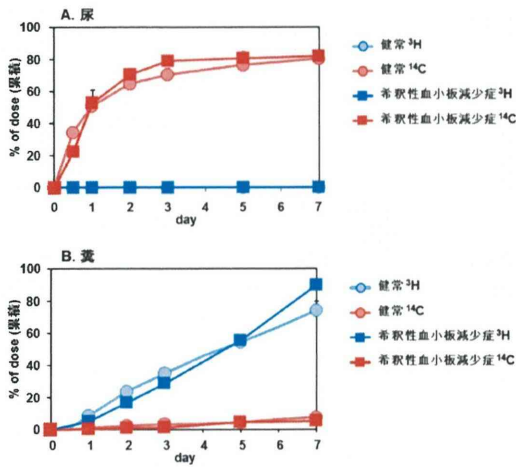


Fig. 9

Time course for radioactivity in urine (A) and feces (B) after the administration of ³H and ¹⁴C radiolabeled H12 (ADP) liposome to healthy and dilutional thrombocytopenic rats. Each point represents the mean ± S.D. (n=4).

を行った。その結果、健康及びブスルファン誘発血小板減少症モデルラットに比べ、希釈性血小板減少症モデルラットにおいては、抗 H12 (ADP) リポソーム IgM の産生は早期 (投与 3 日目) より確認され始めた (Fig. 10A)。また、希釈性血小板減少症モデルラットにおいても抗 H12 (ADP) リポソーム IgG の産生は確認されなかった (Fig. 10B)。従って、H12 (ADP) リポソームを希釈性血小板減少症モデルラットに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。

4. 希釈性血小板減少症モデルラットにおける体内動態評価 (繰り返し投与)

最後に、希釈性血小板減少症モデルラットにおいて IgM の産生亢進が観察されたことから、実際に繰り返し投与した際に ABC 現象が誘導されるか否か検討した。希釈性血小板減少症モデルラットに H12 (ADP) リポソームを 10mg/kg で投与後、IgM の産生亢進が見られた 5 日目に

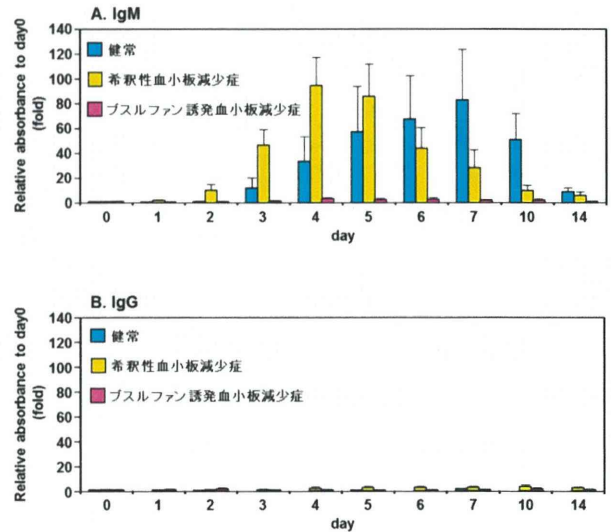


Fig. 10

Determination of (A) IgM and (B) IgG against H12 (ADP) liposomes after a single intravenous injection of H12-(ADP)-liposomes at a dose of 10 mg lipid/kg in healthy rats, busulphan-induced thrombocytopenic model rats and dilutional thrombocytopenic rats. Each bar represents the mean ± SD (n=4).

放射標識した H12 (ADP) リポソームを同様に投与しその後の放射活性 (³H) の血漿中濃度推移を観察した。その結果、希釈性血小板減少症ラットにおいて初回投与時と比較して、繰り返し投与時においては放射活性の急激な血中からの消失が観察された (Fig. 11)。この結果は、希釈性血小板減少症モデルラットに H12 (ADP) リポソームの繰り返し投与すると ABC 現象が誘発される可能性が示唆され、また、この ABC 誘導には抗 H12 (ADP) リポソーム IgM が関与していることが示唆された。

D. 考察

人工血小板である H12 (ADP) リポソームの臨床使用を考えた場合、適応疾患時の体内動態を把握することは重要である。そこで、適応疾患の一つとして臨床使用が期待される希釈性血小

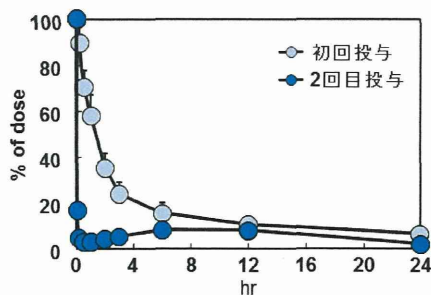


Fig. 11
Plasma concentration curve of ^3H radiolabeled H12 (ADP) liposome after the first injection or the second injection of ^3H radiolabeled H12 (ADP) liposome at a dose of 10 mg lipid/kg to dilutional thrombocytopenic rats. Each point represents the mean \pm S.D. ($n=4$).

血小板減少モデルラットにおいて H12 (ADP) リポソームの単回投与時における検討を行った。その結果、血漿中濃度は健常時と比較して減少し、消失半減期は約 3 時間であった。しかしながら、外傷などの大量出血に伴う血小板減少状態では消失半減期は数時間程度で問題ないと考えられるため、H12 (ADP) リポソームは希釈性血小板減少症時においても十分に使用できる可能性が示唆された。また、この血中濃度の減少は肝臓及び脾臓への取り込み増大によるものと推察された。希釈性血小板減少症は大量出血時に起こると想定され、その際には臓器の低酸素化及び再酸素化によって活性酸素種やサイトカインが産生されるため、細網内皮系、特にクッパー細胞が活性化されており、さらに貪食活性も上昇していると推察されることから、肝臓及び脾臓への分布が増大したと考えられる。しかしながら、希釈性血小板減少モデルラットの代謝・排泄経路は健常時と大きく変化せず、生体蓄積性はないことが明らかとなった。

次に、人工血小板である H12 (ADP) リポソームの臨床使用を考えた場合、頻回投与の可能性は十分に想定されるため、H12 (ADP) リポソーム

頻回投与時の体内動態を把握することは重要であるが、これまでに検討した報告はない。そこで、健常ラット、ブスルファン誘発及び希釈性血小板減少症モデルラットにおいて H12 (ADP) リポソーム頻回投与時における ABC 現象誘導に関する検討を行った。その結果、健常ラット及び希釈性血小板減少症モデルラットにおいては H12 (ADP) リポソーム投与後、ABC 現象誘導の原因とされている抗 H12 (ADP) リポソーム IgM の産生が確認された。また、これを反映するように健常ラット及び希釈性血小板減少症モデルラットに初回投与 5 日後に再度 H12 (ADP) リポソームを投与すると、急激な血漿中濃度の低下及び肝臓への高い集積が起こり、ABC 現象が誘導された。一方、ブスルファン誘発血小板減少モデルラットでは、抗 H12 (ADP) リポソーム IgM の産生はほとんど確認されず、実際にブスルファン誘発血小板減少モデルラットに初回投与 5 日後に繰り返し投与した場合においても ABC 現象は誘導されなかった。これまでに、ドキシソルビシン封入リポソームを頻回投与した場合、ドキシソルビシンの細胞毒性により脾臓中の抗体産生細胞が傷害されることで、IgM が産生されなくなる結果、ABC 現象が誘導されないことが報告されている。そのため、本研究で用いたブスルファン誘発血小板減少モデルにおいて ABC 現象が誘導されなかったのは、抗がん剤であるブスルファンが脾臓中の抗体産生細胞が傷害されたためと考えられる。今回得られた知見は、頻回投与が想定される抗がん剤誘発の血小板減少症時において H12 (ADP) リポソームを頻回投与しても ABC 現象は誘導されない可能性を提示しており、このような患者においては H12 (ADP) リポソームの頻回投与は薬物動態学的には安全に使用できると考えられる。また、上述したように希釈性血小板減少症モデルにおいては ABC 現象が確認されたが、臨床を想定した場合、希釈性血小板減少においては原則単回

投与がもしくはABC現象が誘導される以前での繰り返し投与が考えられ、臨床を推定した場合に希釈性血小板減少症においてもH12 (ADP) リポソームは十分に使用できる可能性が示された。

本研究は、H12 (ADP) リポソーム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) リポソームの臨床開発、特に至適投与設計において有用な基基礎データを提供することができたと考える。ただし、これらの結果だけでH12 (ADP) リポソームの有効性・安全性を断言することはできないため、今後、霊長類による体内動態実験などの更なるデータの蓄積をすることで、ヒトにおけるH12(ADP)リポソームの有効性、安全性をより正確に実証できると考えられる。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanaka R, Watanabe H, Kodama A, Chuang VT, Ishima Y, Hamasaki K, Tanaka KI, Mizushima T, Otagiri M, **Maruyama T**. Long-acting human serum albumin-thioredoxin fusion protein suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression. *J Pharmacol Exp Ther*. In press (2013).
2. Ishima Y, Shinagawa T, Yoneshige S, Kragh-Hansen U, Ohya Y, Inomata Y, Kai T, Otagiri M, **Maruyama T**. UW solution improved with high anti-apoptotic activity by S-nitrosated human serum albumin. *Nitric Oxide*. In press (2013).
3. Minomo A, Ishima Y, Chuang VT, Suwa Y, Kragh-Hansen U, Narisoko T, Morioka H, **Maruyama T**, Otagiri M. Albumin domain II mutant with high bilirubin binding affinity has a great potential as serum bilirubin excretion

enhancer for hyperbilirubinemia treatment.

Biochim Biophys Acta. In press (2013).

4. Watanabe H, Miyamoto Y, Honda D, Tanaka H, Wu Q, Endo M, Noguchi T, Kadowaki D, Ishima Y, Kotani S, Nakajima M, Kataoka K, Kim-Mitsuyama S, Tanaka M, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. p-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase. *Kidney Int*. in press (2013).
5. Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, Tanaka H, Chuang VT, Miyamoto Y, Wu Q, Endo M, Hamasaki K, Ishima Y, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. A human serum albumin-thioredoxin fusion protein prevents experimental contrast-induced nephropathy. *Kidney Int*. in press (2013).
6. Kondo Y, Ishitsuka Y, Kadowaki D, Fukumoto Y, Miyamoto Y, Irikura M, Hirata S, Sato K, **Maruyama T**, Hamasaki N, Irie T. Phosphoenolpyruvate, a glycolytic intermediate, as a cytoprotectant and antioxidant in ex-vivo cold-preserved mouse liver: a potential application for organ preservation. *J Pharm Pharmacol*. In press (2013).
7. Ogaki S, Taguchi K, Watanabe H, Otagiri M, **Maruyama T**. Carbon monoxide-bound red blood cells protect red blood cell transfusion-induced hepatic cytochrome P450 impairment in hemorrhagic-shock rats. *Drug Metab Dispos*. in press (2013).
8. Watanabe K, Ishima Y, Akaike T, Sawa T, Kuroda T, Ogawa W, Watanabe H, Suenaga A, Kai T, Otagiri M, **Maruyama T**. S-nitrosated α -1-acid glycoprotein kills drug-resistant bacteria and aids survival in sepsis. *FASEB J*. 27:391-8 (2013).
9. Kadowaki D, Sumikawa S, Arimizu K, Taguchi K, Kitamura K, Ishitsuka Y, Narita Y, Irie T, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M, Hirata S.

- Effect of acetaminophen on the progression of renal damage in adenine induced renal failure model rats. *Life Sci.* 91:1304-8 (2012).
10. Ishima Y, Hara M, Kragh-Hansen U, Inoue A, Suenaga A, Kai T, Watanabe H, Otagiri M, **Maruyama T**. Elucidation of the therapeutic enhancer mechanism of poly-S-nitrosated human serum albumin against multidrug-resistant tumor in animal models. *J Control Release.* 164:1-7 (2012).
 11. Miyamoto Y, Iwao Y, Mera K, Watanabe H, Kadowaki D, Ishima Y, Chuang VT, Sato K, Otagiri M, **Maruyama T**. A uremic toxin, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate induces cell damage to proximal tubular cells via the generation of a radical intermediate. *Biochem Pharmacol.* 84:1207-14 (2012).
 12. Komori H, Watanabe H, Shuto T, Kodama A, Maeda H, Watanabe K, Kai H, Otagiri M, **Maruyama T**. $\alpha(1)$ -Acid glycoprotein up-regulates CD163 via TLR4/CD14 protein pathway: possible protection against hemolysis-induced oxidative stress. *J Biol Chem.* 287:30688-700 (2012).
 13. Kaneko K, Chuang VT, Ito T, Suenaga A, Watanabe H, **Maruyama T**, Otagiri M. Arginine 485 of human serum albumin interacts with the benzophenone moiety of ketoprofen in the binding pocket of subdomain III A and III B. *Pharmazie.* 67:414-8 (2012).
 14. Taguchi K, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M. Pharmaceutical aspects of the recombinant human serum albumin dimer: structural characteristics, biological properties, and medical applications. *J Pharm Sci.* 101:3033-46 (2012).
 15. Watanabe H, Noguchi T, Miyamoto Y, Kadowaki D, Kotani S, Nakajima M, Miyamura S, Ishima Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Interaction between two sulfate-conjugated uremic toxins, p-cresyl sulfate and indoxyl sulfate, during binding with human serum albumin. *Drug Metab Dispos.* 40:1423-8 (2012).
 16. Ishima Y, Hoshino H, Shinagawa T, Watanabe K, Akaike T, Sawa T, Kragh-Hansen U, Kai T, Watanabe H, **Maruyama T**, Otagiri M. S-ganylation of human serum albumin is a unique posttranslational modification and results in a novel class of antibacterial agents. *J Pharm Sci.* 101:3222-9 (2012).
 17. 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.* 64:450-4 (2012).
 18. 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 β -chain on plasma membranes in the uptake of human AGP by liver parenchymal cells. *J Pharm Sci.* 101:1607-15 (2012).
 19. 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).
 20. Yamakawa N, Suemasu S, Watanabe H, Tahara K, Tanaka KI, Okamoto Y, Ohtsuka M, **Maruyama T**, Mizushima T. Comparison of pharmacokinetics between loxoprofen and its derivative with lower ulcerogenic activity, fluoro-loxoprofen. *Drug Metab Pharmacokinet.* (2012) in press
 21. Taguchi K, Watanabe H, Sakai H, Horinouchi H, Kobayashi K, **Maruyama T**, Otagiri M. A fourteen-day observation and pharmacokinetic

- evaluation after a massive intravenous infusion of hemoglobin-vesicles (artificial oxygen carriers) in cynomolgus monkeys. *J Drug Metab Toxicol.*, 3, 1000128 (2012)
22. Taguchi K, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M. Pharmaceutical aspects of the recombinant human serum albumin dimer: structural characteristics, biological properties, and medical applications. *J Pharm Sci.* 101:3033-46 (2012).
 23. 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 β -chain on mouse liver parenchymal cells. *J Pharm Sci.* 101:1599-606 (2012).
 24. Tanaka K, Kurotsu S, Asano T, Yamakawa N, Kobayashi D, Yamashita Y, Yamazaki H, Ishihara T, Watanabe H, **Maruyama T**, Suzuki H, Mizushima T, Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic obstructive pulmonary disease, *Sci Rep.* (2014) In press
 25. Hirata K, Saruwatari J, Enoki Y, Iwata K, Urata Y, Aizawa K, Ueda K, Shirouzono T, Imamura M, Moriuchi H, Ishima Y, Kadowaki D, Watanabe H, Hirata S, **Maruyama T**, Fukunaga E. Possible false-negative results on therapeutic drug monitoring of phenytoin using a particle enhanced turbidimetric inhibition immunoassay in a patient with a high level of IgM. *Ther Drug Monit.* (2014) In press
 26. Tanaka R, Ishima Y, Maeda H, Kodama A, Nagao S, Watanabe H, Chuang VT, Otagiri M, **Maruyama T**. Albumin Fusion Prolongs the Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Thioredoxin in Mice with Acetaminophen-Induced Hepatitis. *Mol Pharm.* (2014) In press
 27. Sato H, Chuang VT, Yamasaki K, Yamaotsu N, Watanabe H, Nagumo K, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Hirono S, Otagiri M, **Maruyama T**. Differential effects of methoxy group on the interaction of curcuminoids with two major ligand binding sites of human serum albumin. *PLoS One.* (2014) Feb 3;9(2):e87919.
 28. Ishima Y, Kragh-Hansen U, **Maruyama T**, Otagiri M. Poly-s-nitrosated albumin as a safe and effective multifunctional antitumor agent: characterization, biochemistry and possible future therapeutic applications. *Biomed Res Int.* (2013) 353892.
 29. Ishitsuka Y, Fukumoto Y, Kondo Y, Irikura M, Kadowaki D, Narita Y, Hirata S, Moriuchi H, **Maruyama T**, Hamasaki N, Irie T. Comparative Effects of Phosphoenolpyruvate, a Glycolytic Intermediate, as an Organ Preservation Agent with Glucose and N-Acetylcysteine against Organ Damage during Cold Storage of Mouse Liver and Kidney. *ISRN Pharmacol.* (2013) 375825.
 30. Nagumo K, Tanaka M, Chuang VT, Setoyama H, Watanabe H, Yamada N, Kubota K, Tanaka M, Matsushita K, Yoshida A, Jinnouchi H, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Sasaki Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Cys34-cysteinylated human serum albumin is a sensitive plasma marker in oxidative stress-related chronic diseases. *PLoS One.* (2014) 9(1):e85216.
 31. Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, Kondo M, Chuang VT, Wu Q, Endo M, Ishima Y, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. Albumin fusion renders thioredoxin an effective anti-oxidative and anti-inflammatory agent for preventing cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biochim Biophys Acta.* (2014) 1840(3):1152-62.
 32. Taguchi K, Jono H, Kugimiya-Taguchi T, Nagao S, Su Y, Yamasaki K, Mizuguchi M, **Maruyama**

- T**, Ando Y, Otagiri M. Effect of albumin on transthyretin and amyloidogenic transthyretin Val30Met disposition and tissue deposition in familial amyloidotic polyneuropathy. *Life Sci.* (2013) 93(25-26):1017-22.
33. Watanabe H, Sakaguchi Y, Sugimoto R, Kaneko KI, Iwata H, Kotani S, Nakajima M, Ishima Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Human organic anion transporters function as a high-capacity transporter for p-cresyl sulfate, a uremic toxin. *Clin Exp Nephrol.* In press
34. Taguchi K, Ujihira H, Watanabe H, Fujiyama A, Doi M, Takeoka S, Ikeda Y, Handa M, Otagiri M, **Maruyama T**. Pharmacokinetic study of adenosine diphosphate-encapsulated liposomes coated with fibrinogen γ -chain dodecapeptide as a synthetic platelet substitute in an anticancer drug-induced thrombocytopenia rat model. *J Pharm Sci.* (2013) 102(10):3852-9.
35. Nishijima M, Kato H, Fukuhara G, Yang C, Mori T, **Maruyama T**, Otagiri M, Inoue Y. Photochirogenesis with mutant human serum albumins: enantiodifferentiating photocyclodimerization of 2-anthracenecarboxylate. *Chem Commun (Camb).* (2013) 28;49(67):7433-5.
36. Tanaka H, Iwasaki Y, Yamato H, Mori Y, Komaba H, Watanabe H, **Maruyama T**, Fukagawa M. p-Cresyl sulfate induces osteoblast dysfunction through activating JNK and p38 MAPK pathways. *Bone.* (2013) 56(2):347-54.
37. Taguchi K, Ujihira H, Ogaki S, Watanabe H, Fujiyama A, Doi M, Okamura Y, Takeoka S, Ikeda Y, Handa M, Otagiri M, **Maruyama T**. Pharmacokinetic study of the structural components of adenosine diphosphate-encapsulated liposomes coated with fibrinogen γ -chain dodecapeptide as a synthetic platelet substitute. *Drug Metab Dispos.* (2013) 41(8):1584-91.
38. Yamasaki K, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M. Albumin-drug interaction and its clinical implication. *Biochim Biophys Acta.* (2013) 1830(12):5435-43.
39. Anraku M, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M. Redox properties of serum albumin. *Biochim Biophys Acta.* (2013) 1830(12):5465-72.
40. Tanaka R, Watanabe H, Kodama A, Chuang VT, Ishima Y, Hamasaki K, Tanaka K, Mizushima T, Otagiri M, **Maruyama T**. Long-acting human serum albumin-thioredoxin fusion protein suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression. *J Pharmacol Exp Ther.* (2013) 345(2):271-83.
41. Ishima Y, Shinagawa T, Yoneshige S, Kragh-Hansen U, Ohya Y, Inomata Y, Kai T, Otagiri M, **Maruyama T**. UW solution improved with high anti-apoptotic activity by S-nitrosated human serum albumin. *Nitric Oxide.* (2013) 30:36-42.
42. Kondo Y, Ishitsuka Y, Kadowaki D, Fukumoto Y, Miyamoto Y, Irikura M, Hirata S, Sato K, **Maruyama T**, Hamasaki N, Irie T. Phosphoenolpyruvate, a glycolytic intermediate, as a cytoprotectant and antioxidant in ex-vivo cold-preserved mouse liver: a potential application for organ preservation. *J Pharm Pharmacol.* (2013) 65(3):390-401.
43. Minomo A, Ishima Y, Chuang VT, Suwa Y, Kragh-Hansen U, Narisoko T, Morioka H, **Maruyama T**, Otagiri M. Albumin domain II mutant with high bilirubin binding affinity has a great potential as serum bilirubin excretion enhancer for hyperbilirubinemia treatment. *Biochim Biophys Acta.* (2013) 1830(4):2917-23.
44. Watanabe H, Miyamoto Y, Honda D, Tanaka H, Wu Q, Endo M, Noguchi T, Kadowaki D, Ishima Y, Kotani S, Nakajima M, Kataoka K, Kim-Mitsuyama S, Tanaka M, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. p-Cresyl sulfate

- causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase. *Kidney Int.* (2013) 83(4):582-92.
45. Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, Tanaka H, Chuang VT, Miyamoto Y, Wu Q, Endo M, Hamasaki K, Ishima Y, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. A human serum albumin-thioredoxin fusion protein prevents experimental contrast-induced nephropathy. *Kidney Int.* (2013) 83(3):446-54.
 46. Ogaki S, Taguchi K, Watanabe H, Otagiri M, **Maruyama T**. Carbon monoxide-bound red blood cells protect red blood cell transfusion-induced hepatic cytochrome P450 impairment in hemorrhagic-shock rats. *Drug Metab Dispos.* (2013) 41(1):141-8.
 47. Watanabe K, Ishima Y, Akaike T, Sawa T, Kuroda T, Ogawa W, Watanabe H, Suenaga A, Kai T, Otagiri M, **Maruyama T**, S-nitrosated α -1-acid glycoprotein kills drug-resistant bacteria and aids survival in sepsis, *FASEB J*, (2013) 27: 391-8.
 48. Tanaka R, Ishima Y, Enoki Y, Kimachi K, Shirai T, Watanabe H, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M. Therapeutic impact of human serum albumin-thioredoxin fusion protein on influenza virus-induced lung injury mice. *Front Immunol.* 2014 Nov 5;5:561.
 49. Maeda H, Hirata K, Watanabe H, Ishima Y, Chuang VT, Taguchi K, Inatsu A, Kinoshita M, Tanaka M, Sasaki Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Polythiol-containing, recombinant mannosylated-albumin is a superior CD68+/CD206+ Kupffer cell-targeted nanoantioxidant for treatment of two acute hepatitis models. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015 Feb;352(2):244-57.
 50. Miyazaki Y, Taguchi K, Sou K, Watanabe H, Ishima Y, Miyakawa T, Mitsuya H, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. Therapeutic impact of erythropoietin-encapsulated liposomes targeted to bone marrow on renal anemia. *Mol Pharm.* 2014 Nov 3;11(11):4238-48.
 51. Anraku M, Tanaka M, Hiraga A, Nagumo K, Imafuku T, Maezaki Y, Iohara D, Uekama K, Watanabe H, Hirayama F, **Maruyama T**, Otagiri M. Effects of chitosan on oxidative stress and related factors in hemodialysis patients. *Carbohydr Polym.* 2014 Nov 4;112:152-7.
 52. Ogaki S, Taguchi K, Watanabe H, Ishima Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Carbon monoxide-bound red blood cell resuscitation ameliorates hepatic injury induced by massive hemorrhage and red blood cell resuscitation via hepatic cytochrome P450 protection in hemorrhagic shock rats. *J Pharm Sci.* 2014 Jul;103(7):2199-206.
 53. Ishima Y, Fang J, Kragh-Hansen U, Yin H, Liao L, Katayama N, Watanabe H, Kai T, Suenaga A, Maeda H, Otagiri M, **Maruyama T**. Tuning of poly-S-nitrosated human serum albumin as superior antitumor nanomedicine. *J Pharm Sci.* 2014 Jul;103(7):2184-8.
 54. Nagao S, Taguchi K, Sakai H, Tanaka R, Horinouchi H, Watanabe H, Kobayashi K, Otagiri M, **Maruyama T**. Carbon monoxide-bound hemoglobin-vesicles for the treatment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Biomaterials.* 2014 Aug;35(24):6553-62.
 55. Kouno Y, Anraku M, Yamasaki K, Okayama Y, Iohara D, Ishima Y, **Maruyama T**, Kragh-Hansen U, Hirayama F, Otagiri M. N-acetyl-L-methionine is a superior protectant of human serum albumin against photo-oxidation and reactive oxygen species compared to N-acetyl-L-tryptophan. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Sep;1840(9):2806-12.
 56. Hirata K, Saruwatari J, Enoki Y, Iwata K, Urata Y, Aizawa K, Ueda K, Shirouzono T, Imamura M,

- Moriuchi H, Ishima Y, Kadowaki D, Watanabe H, Hirata S, **Maruyama T**, Fukunaga E. Possible false-negative results on therapeutic drug monitoring of phenytoin using a particle enhanced turbidimetric inhibition immunoassay in a patient with a high level of IgM. *Ther Drug Monit.* 2014 Oct;36(5):553-5.
57. Tanaka R, Ishima Y, Maeda H, Kodama A, Nagao S, Watanabe H, Chuang VT, Otagiri M, **Maruyama T**. Albumin fusion prolongs the antioxidant and anti-inflammatory activities of thioredoxin in mice with acetaminophen-induced hepatitis. *Mol Pharm.* 2014 Apr 7;11(4):1228-38.
58. Tanaka K, Kurotsu S, Asano T, Yamakawa N, Kobayashi D, Yamashita Y, Yamazaki H, Ishihara T, Watanabe H, **Maruyama T**, Suzuki H, Mizushima T. Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic obstructive pulmonary disease. *Sci Rep.* 2014 Mar 28;4:4510.
59. Sato H, Chuang VT, Yamasaki K, Yamaotsu N, Watanabe H, Nagumo K, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Hirono S, Otagiri M, **Maruyama T**. Differential effects of methoxy group on the interaction of curcuminoids with two major ligand binding sites of human serum albumin. *PLoS One.* 2014 Feb 3;9(2):e87919.
60. Nagumo K, Tanaka M, Chuang VT, Setoyama H, Watanabe H, Yamada N, Kubota K, Tanaka M, Matsushita K, Yoshida A, Jinnouchi H, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Sasaki Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Cys34-cysteinylation of human serum albumin is a sensitive plasma marker in oxidative stress-related chronic diseases. *PLoS One.* 2014 Jan 8;9(1):e85216.
61. Watanabe H, Sakaguchi Y, Sugimoto R, Kaneko K, Iwata H, Kotani S, Nakajima M, Ishima Y, Otagiri M, **Maruyama T**. Human organic anion transporters function as a high-capacity transporter for p-cresyl sulfate, a uremic toxin. *Clin Exp Nephrol.* 2014 Oct;18(5):814-20.
62. Kadowaki D, Sakaguchi S, Miyamoto Y, Taguchi K, Muraya N, Narita Y, Sato K, Chuang VT, **Maruyama T**, Otagiri M, Hirata S. Direct radical scavenging activity of benzbromarone provides beneficial antioxidant properties for hyperuricemia treatment. *Biol Pharm Bull.* 2015 Mar 1;38(3):487-92.
63. Taguchi K, Hashimoto M, Ogaki S, Watanabe H, Takeoka S, Ikeda Y, Handa M, Otagiri M, **Maruyama T**. Effect of repeated injections of adenosine diphosphate-encapsulated liposomes coated with a fibrinogen γ -chain dodecapeptide developed as a synthetic platelet substitute on accelerated blood clearance in a healthy and an anticancer drug-induced thrombocytopenia rat model. *J Pharm Sci.* 2015 Mar 9. doi: 10.1002/jps.24418.
64. Watanabe H, Miyamoto Y, Enoki Y, Ishima Y, Kadowaki D, Kotani S, Nakajima M, Tanaka M, Matsushita K, Mori Y, Kakuta T, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. p-Cresyl sulfate, a uremic toxin, causes vascular endothelial and smooth muscle cell damages by inducing oxidative stress. *Pharmacol Res Perspect.* 2015 Feb;3(1):e00092.
65. Taguchi K, Chuang VT, Yamasaki K, Urata Y, Tanaka R, Anraku M, Seo H, Kawai K, **Maruyama T**, Komatsu T, Otagiri M. Cross-linked human serum albumin dimer has the potential for use as a plasma-retaining agent for the fatty acid-conjugated antidiabetic drugs. *J Pharm Pharmacol.* 2015 Feb;67(2):255-63.
66. Ishima Y, Inoue A, Fang J, Kinoshita R, Ikeda M, Watanabe H, Maeda H, Otagiri M, **Maruyama T**. Poly-S-nitrosated human albumin enhances the antitumor and antimetastasis effect of bevacizumab, partly by inhibiting autophagy through the generation of nitric oxide. *Cancer*

2. 学会発表

(国際学会)

1. Miyamoto Y, Iwao Y, Mera K, Watanabe H, Kadowaki D, Ishima Y, Chuang VTG, Sato K, Otagiri M, **Maruyama T**. A uremic toxin, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate accumulates in proximal tubular cells and induces cell damage through increasing oxidative stress. 49th ERA-EDTA Congress 2012 (Paris, France, 2012, 5/24-5/27)
2. Watanabe H, Honda D, Miyamoto Y, Noguchi T, Kadowaki D, Ishima Y, Tanaka M, Tanaka H, Fukagawa M, Otagiri M, **Maruyama T**. *p*-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress through the activation of NADPH oxidase. 49th ERA-EDTA Congress 2012 (Paris, France, 2012, 5/24-5/27)
3. Kaori Watanabe, Yu Ishima, Teruo Kuroda, Wakano Ogawa, Hiroshi Watanabe, Ayaka Suenaga, Toshiya Kai, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** S-nitrosated α -1-acid glycoprotein kills drug-resistant bacteria and aids survival in sepsis. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences 2013 (Jeju, Korea) 2013/11/21-22
4. Ryota Tanaka, Hitoshi Maeda, Azusa Kodama, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, **Toru Maruyama**, Masaki Otagiri Therapeutic impact of human serum albumin-thioredoxin fusion protein, long-acting anti-oxidative and anti-inflammatory modulator, against acetaminophen-induced acute liver failure. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences 2013 (Jeju, Korea) 2013/11/21-22
5. Shigeru Ogaki, Kazuaki Taguchi, Hitoshi Maeda, Yu Ishima, Hiroshi Watanabe, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** Carbon monoxide bound red blood cells protect the expression of hepatic cytochrome P450 after resuscitation from hemorrhagic shock via inactivation of Kupffer cells. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences 2013 (Jeju, Korea) 2013/11/21-22
6. Kohei Nagumo, Tadashi Imafuku, Naoyuki Yamada, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, Motohiko Tanaka, Yutaka Sasaki, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** Mechanism of enhanced cysteinylolation of Cys34 in human serum albumin in chronic liver disease. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences 2013 (Jeju, Korea) 2013/11/21-22
7. Hiroshi Watanabe, Azusa Kodama, Ryota Tanaka, Hisae Tanaka, Victor Tuan Giam Chuang, Yu Ishima, Masafumi Fukagawa, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** A human serum albumin–thioredoxin fusion protein prevents experimental contrast-induced nephropathy. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences 2013 (Jeju, Korea) 2013/11/21-22
8. Hiroshi Watanabe, Yohei Miyamoto, Yuki Enoki, Yu Ishima, Masafumi Fukagawa, Masaki Otagiri and **Toru Maruyama**. MOLECULAR PHARMACOKINETIC MECHANISMS OF OXIDATIVE STRESS-INDUCED TISSUE DAMAGE IN CHRONIC KIDNEY DISEASE FOR MEDICAL DEVELOPMENT AND THERAPEUTIC APPLICATION. (19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Meeting 2014/10/19-23 San Francisco, California, USA)
9. Shigeru Ogaki, Hitoshi Maeda, Kazuaki Taguchi, Yu Ishima, Hiroshi Watanabe, Masaki Otagiri and **Toru Maruyama**. CARBON MONOXIDE BOUND RED BLOOD CELLS PROTECT THE FUNCTION OF HEPATIC CYTOCHROME P450 AFTER RESUSCITATION FROM HEMORRHAGIC SHOCK VIA SUPPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTOR-4 EXPRESSION ON THE KUPFFER CELLS. (19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Meeting

2014/10/19-23 San Francisco, California, USA)

10. Azusa Kodama, Hiroshi Watanabe, Ryota Tanaka, Yu Ishima, Masafumi Fukagawa, Masaki Otagiri and **Toru Maruyama**. Albumin fusion renders thioredoxin an effective anti-oxidative and anti-inflammatory agent for preventing acute kidney injury. (19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Meeting 2014/10/19-23 San Francisco, California, USA)
11. Hitoshi Maeda, Shota Ichimizu, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, Ayaka Suenaga, Masaki Otagiri and **Toru Maruyama**. Polythiolated- and recombinant mannosylated-albumin as a novel CD68⁺/CD206⁺ Kupffer cell-targeted nano-antioxidant for the treatment of acute and chronic hepatitis models. (19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Meeting 2014/10/19-23 San Francisco, California, USA)
12. **Toru Maruyama**, Ryota Tanaka, Hiroshi Watanabe, Azusa Kodama, Yu Ishima, Masaki Otagiri. Genetically engineered albumin-thioredoxin fusion protein, long-acting anti-oxidant, ameliorates acute lung injury associated with influenza virus infection. (19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Meeting 2014/10/19-23 San Francisco, California, USA)
13. Saori Nagao, Kazuaki Taguchi, Ryota Tanaka, Hiromi Sakai, Hiroshi Watanabe, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama**. Development of nanotechnology-based carbon monoxide donor and its therapeutic impact on idiopathic pulmonary fibrosis. (19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Meeting 2014/10/19-23 San Francisco, California, USA)

(国内学会)

1. 田中遼大, 小玉あずさ, 異島優, 田中健一郎,

水島徹, 渡邊博志, 小田切優樹, **丸山徹**. プレオマイシン誘発肺線維症に対するアルブミン-チオレドキシ融合タンパク質の有用性評価 (日本薬剤学会第27年会、2012年5月24-26日)

2. 西村知晃, 蓑毛藍, 異島優, 末永綾香, 渡邊博志, 森岡弘志, 小田切優樹, **丸山徹** フェージディスプレイ法を用いた尿毒症物質 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furan (CMPF) 高親和性アルブミン変異体の設計 (日本薬剤学会27年会 2012年5月24日-5月26日)
3. 弥永直樹, 渡邊博志, 濱崎慶輔, 國安明彦, 異島優, 小田切優樹, **丸山徹** *In vivo* フェージディスプレイ法を用いた新規腎送達ペプチドの探索 (日本薬剤学会27年会 2012年5月24日-5月26日)
4. 濱崎慶輔, 渡邊博志, 弥永直樹, 國安明彦, 異島優, 小田切優樹, **丸山徹** アルギニンペプチドを利用した細胞膜透過型アルブミンの設計と評価 (日本薬剤学会27年会 2012年5月24日-5月26日)
5. 宮崎裕理, 田口和明, 宗慶太郎, 小田切優樹, **丸山徹** 骨髄指向性を有する新規エリスロポエチン製剤の開発 (日本薬剤学会27年会 2012年5月24日-5月26日)
6. 井上亜希, 異島優, 方軍, 前田浩, 小田切優樹, 渡邊博志, **丸山徹** S-ニトロソ化アルブミンダイマーはEPR効果を増強する (日本薬剤学会27年会 2012年5月24日-5月26日)
7. 渡辺佳織, 異島優, 赤池孝章, 澤智裕, 黒田照夫, 小川和加野, 渡邊博志, 甲斐俊哉, 小田切優樹, **丸山徹** S-ニトロソ化に伴う α 1-酸性糖タンパク質(AGP)の抗菌機能獲得と感染症治療への応用 (第12回日本NO学会学術集会 2012年6月29日-30日)
8. 異島優, 品川拓也, 米重梓二, 甲斐俊哉, 赤池孝章, 小田切優樹, **丸山徹** S-ニトロソ化アルブミンにより抗アポトーシス効果を付与した改良型臓器保存液の開発 (第12回日本NO学会学術集会 2012年6月29日-30日)

- 日)
9. 田口和明、酒井宏水、堀之内宏久、小林紘一、丸山徹、小田切優樹 細胞型人工酸素運搬体へヘモグロビン小胞体のカニクイザルへの大量投与の結果からみた実効性 (第19日本血液代替物学会年次大会 2012年10月25日-26日)
 10. 丸山徹、田口和明、氏平隼人、渡邊博志、新井愛美、池田康夫、武岡真司、半田誠、小田切優樹 血小板代替物 H12(ADP)リポソームの体内動態に及ぼす血小板減少症の影響 (第19日本血液代替物学会年次大会 2012年10月25日-26日)
 11. 大柿滋、田口和明、渡邊博志、丸山徹、小田切優樹 出血性ショックモデルラットにおける一酸化炭素付加型赤血球の肝チトクローム P450 保護効果 (第19日本血液代替物学会年次大会 2012年10月25日-26日)
 12. 南雲恒平、杉森剛志、山田尚之、窪田和幸、渡邊博志、異島優、田中元彦、佐々木裕、丸山徹、小田切優樹 ESI-TOF/MS を用いたシステム付加型ヒト血清アルブミンの検出と機能相関-慢性肝疾患への応用 (第19日本血液代替物学会年次大会 2012年10月25日-26日)
 13. 渡辺佳織、異島優、赤池孝章、澤智裕、黒田照夫、小川和加野、渡邊博志、甲斐俊哉、小田切優樹、丸山徹 S-ニトロソ化に伴う α 1-酸性糖タンパク質(AGP)の抗菌機能獲得と感染症治療への応用 (第34回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2012年11月15日-16日)
 14. 宮本洋平、渡邊博志、本田大輔、門脇大介、異島優、深川雅史、小田切優樹、丸山徹 尿毒症物質パラクレジル硫酸のレドックス特性と腎障害、心血管疾患発症機序解明 (第34回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2012年11月15日-16日)
 15. 大柿滋、田口和明、前田仁志、異島優、渡邊博志、小田切優樹、丸山徹 一酸化炭素付加赤血球によるクッパー細胞の不活化は輸血誘発肝チトクローム P450 の機能障害を保護する (第34回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2012年11月15日-16日)
 16. 丸山徹、石井宏、中村照也、渡邊博志、異島優、末永綾香、山縣ゆり子、小田切優樹 ヒト α 1-酸性糖タンパク質バリエーション A 体と F1*S 体に対する薬物結合選択性の分子機序解明 (日本薬物動態学会第27年回千葉 2012年11月20日-22日)
 17. 前田仁志、渡邊博志、異島優、末永綾香、小田切優樹、丸山徹 遺伝子組換え型マンノースアルブミンによるクッパー細胞選択的なチオール送達はコンカナバリン誘発肝炎を軽減する (日本薬物動態学会第27年回千葉 2012年11月20日-22日)
 18. 小玉あずさ、田中遼大、渡邊博志、異島優、小田切優樹、丸山徹 ヒト血清アルブミン-チオレドキシシン融合タンパク質は抗酸化作用によりシスプラチン誘発腎障害を抑制する (日本薬物動態学会第27年回千葉 2012年11月20日-22日)
 19. 田中遼大、小玉あずさ、渡邊博志、異島優、田中健一郎、水島徹、小田切優樹、丸山徹 ヒト血清アルブミン-チオレドキシシン融合タンパク質の持続的な抗酸化・抗炎症作用によるブレオマイシン誘発肺線維症に対する治療効果 (日本薬物動態学会第27年回千葉 2012年11月20日-22日)
 20. 永尾紗理、田口和明、田中遼大、渡邊博志、酒井宏水、堀之内宏久、小林紘一、小田切優樹、丸山徹 一酸化炭素付加型ヘモグロビン小胞体は抗炎症・抗酸化作用を介してブレオマイシン誘発肺線維症を抑制する (日本薬物動態学会第27年回千葉 2012年11月20日-22日)
 21. 末永綾香、異島優、井上亜希、方軍、前田浩、甲斐俊哉、小田切優樹、丸山徹 S-ニトロソ化ヒト血清アルブミン二量体は、新規抗癌剤だけでなく EPR 効果増強剤としても機能す

- る (日本薬物動態学会第 27 年回千葉 2012 年 11 月 20 日-22 日)
22. 渡邊博志、宮本洋平、本田大輔、田中寿絵、深川雅史、異島優、小田切優樹、丸山徹 尿毒症物質 p-クレジル硫酸は OATs を介して近位尿細管上皮、血管内皮及び血管平滑筋細胞に取り込まれ酸化ストレス障害を誘発する (日本薬物動態学会第 27 年回千葉 2012 年 11 月 20 日-22 日)
 23. 小森久和、渡邊博志、首藤剛、小玉あずさ、甲斐広文、小田切優樹、玉井郁巳、丸山徹 α 1-酸性糖タンパク質は CD163 の誘導を介して溶血に起因する酸化ストレスを抑制する (日本薬物動態学会第 27 年回千葉 2012 年 11 月 20 日-22 日)
 24. 渡辺佳織、異島優、黒田照夫、小川和加野、渡邊博志、小田切優樹、丸山徹 S-ニトロソ化に伴う α 1-酸性糖タンパク質の抗菌機能獲得と感染症治療への応用 (日本動物実験代替法学会第 25 回 2012 年 12 月 7 日-9 日)
 25. 宮崎裕理、田口和明、渡邊博志、宗慶太郎、小田切優樹、丸山徹 骨髄標的化エリスロポエチンの製剤設計と腎性貧血治療への応用 (第 29 回日本薬学会九州支部大会 2012 年 12 月 8 日 - 12 月 9 日)
 26. 濱崎慶輔、渡邊博志、弥永直樹、國安明彦、異島優、小田切優樹、丸山徹 ポリアルギニンペプチドを用いた腫瘍細胞内アルブミンデリバリーシステムの構築 (第 29 回日本薬学会九州支部大会 2012 年 12 月 8 日 - 12 月 9 日)
 27. 小玉あずさ、田中遼大、渡邊博志、田中寿絵、異島優、深川雅史、小田切優樹、丸山徹 急性腎障害に対するアルブミン-チオレドキシシン融合体の治療効果と機序解明 (第 29 回日本薬学会九州支部大会 2012 年 12 月 8 日 - 12 月 9 日)
 28. 榎木裕紀、田中遼大、宮本洋平、異島優、渡邊博志、佐藤圭創、小田切優樹、丸山徹 インフルエンザ肺障害に対するニューキノロン系抗菌薬の抗酸化能評価 (第 29 回日本薬学会九州支部大会 2012 年 12 月 8 日 - 12 月 9 日)
 29. 榎木裕紀、渡邊博志、異島優、小田切優樹、丸山徹 尿毒素の酸化ストレス誘導を介したマウス骨格筋細胞障害作用 第 30 回日本薬学会九州支部大会 2013/12/7-8
 30. 杉本龍星、渡邊博志、坂口義明、宮本洋平、異島優、金子健一、岩田宏、小田切優樹、丸山徹 ヒト有機アニオントランスポーターは尿毒症物質 p-クレジル硫酸の高容量性トランスポーターとして機能する 第 30 回日本薬学会九州支部大会 2013/12/7-8
 31. 石井宏志、中村照也、小野知実、和泉実代子、渡邊博志、小田切優樹、山縣ゆり子、丸山徹 Alpha1-酸性糖タンパク質バリエーション間のリガンド結合選択性機序解明 第 30 回日本薬学会九州支部大会 2013/12/7-8
 32. 永尾紗理、田口和明、田中遼大、渡邊博志、酒井宏水、小田切優樹、丸山徹 ブレオマイシン誘発肺線維症に対する一酸化炭素付加型ヘモグロビン小胞体の有用性評価 第 30 回日本薬学会九州支部大会 2013/12/7-8
 33. 橋本麻衣、大柿滋、氏平隼人、田口和明、渡邊博志、藤山淳史、土井麻美、池田康夫、武岡真司、半田誠、小田切優樹、丸山徹 健常及び病態時における血小板代替物 H12(ADP) リポソームの頻回投与が体内動態に及ぼす影響 第 20 回日本血液代替物学会年次大会 2013/12/6-7
 34. 田口和明、永尾紗理、丸山徹、小田切優樹 一酸化炭素付加型ヘモグロビン小胞体の特発性肺線維症治療薬としての創製 第 20 回日本血液代替物学会年次大会 2013/12/6-7
 35. 丸山徹、大柿滋、田口和明、前田仁志、異島優、渡邊博志、小田切優樹 出血性ショック輸血後の肝障害に対する一酸化炭素付加赤血球の保護メカニズム 第 20 回日本血液代替物学会年次大会 2013/12/6-7
 36. 小玉あずさ、渡邊博志、田中遼大、田中寿絵、

- 異島優、深川雅史、小田切優樹、**丸山徹** アルブミン-チオレドキシン誘導体による薬剤性急性腎障害の発症予防と機序解明 第35回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2013/11/21-22
37. 前田仁志、平田憲史郎、渡邊博志、異島 優、末永綾香、小田切優樹、**丸山徹** 遺伝子組換え型糖鎖付加アルブミンによるクッパー細胞選択的チオール送達は急性肝障害を改善する 第35回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2013/11/21-22
38. 異島優、原茉莉絵、甲斐俊哉、渡邊博志、末永綾香、小田切優樹、**丸山徹** 一酸化窒素付加型アルブミンによる抗癌剤耐性克服効果とその機序解明 第35回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2013/11/21-22
39. Ryota Tanaka, Hitoshi Maeda, Azusa Kodama, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** THERAPEUTIC IMPACT OF HUMAN SERUM ALBUMIN-THIOREDOXIN FUSION PROTEIN, LONG-ACTING ANTI-OXIDATIVE AND ANTI-INFLAMMATORY MODULATOR, AGAINST ACETAMINOPHEN-INDUCED ACUTE LIVER FAILURE. 日本薬物動態学会 第28回年会 2013/10/9-11
40. Kaori Watanabe, Yu Ishim, Teruo Kuroda, Wakano Ogawa, Hiroshi Watanabe, Ayaka Suenaga, Toshiya Kai, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** S-NITROSATED α -1-ACID GLYCOPROTEIN KILLS DRUG-RESISTANT BACTERIA AND AIDS SURVIVAL IN SEPSIS. 日本薬物動態学会 第28回年会 2013/10/9-11
41. Kazuaki Taguchi, Hiroshi Watanabe, Hiromi Sakai, **Toru Maruyama**, Masaki Otagiri PRECLINICAL STUDIES OF HEMOGLOBIN-VESICLES AS AN ARTIFICIAL OXYGEN CARRIER IN NON-HUMAN PRIMATE. 日本薬物動態学会 第28回年会 2013/10/9-11
42. Shigeru Ogaki, Hitoshi Maeda, Kazuaki Taguchi, Yu Ishima, Hiroshi Watanabe, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** CARBON MONOXIDE BOUND RED BLOOD CELLS PROTECT THE EXPRESSION OF HEPATIC CYTOCHROME P450 AFTER RESUSCITATION FROM HEMORRHAGIC SHOCK VIA INACTIVATION OF KUPFFER CELLS. 日本薬物動態学会 第28回年会 2013/10/9-11
43. Kohei Nagumo, Tsuyosi Sugimori, Naoyuki Yamada, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, Motohiko Tanaka, Yutaka Sasaki, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** MECHANISM OF ENHANCED CYSTEINYLAATION OF Cys34 IN HUMAN SERUM ALBUMIN IN CHRONIC LIVER DISEASE. 日本薬物動態学会 第28回年会 2013/10/9-11
44. Hiroshi Watanabe, Yoshiaki Sakaguchi, Ryusei Sugimoto, Yu Ishima, Ken-ichi Kaneko, Hiroshi Iwata, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** TRANSPORT OF P-CRESYL SULFATE, A UREMIC TOXIN, VIA HUMAN ORGANIC ANION TRANSPORTER. 日本薬物動態学会 第28回年会 2013/10/9-11
45. Yu Ishima, Marie Hara, Hiroshi Watanabe, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** Poly-S-nitrosated Human Serum Albumin inhibits the Expression of P-glycoprotein Transporter in Human Multidrug-resistant Tumor. The 5th Asian Arden conference 2013/8/6-7
46. **Toru Maruyama**, Yu Ishima, Ai Minomo, Toru Narisoko, Hiroshi Morioka, Hiroshi Watanabe, Masaki Otagiri Albumin domain II mutant with high bilirubin binding affinity has a great potential as serum bilirubin excretion enhancer for hyperbilirubinemia treatment. The 5th Asian

- Arden conference 2013/8/6-7
47. Azusa Kodama, Hiroshi Watanabe, Ryota Tanaka, Hisae Tanaka, Victor Tuan Giam Chuang, Yohei Miyamoto, Yu Ishima, Masafumi Fukagawa, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** A human serum albumin-thioredoxin fusion protein prevents experimental contrast-induced nephropathy. The 5th Asian Arden conference 2013/8/6-7
 48. Ryota Tanaka, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** Long-acting human serum albumin-thioredoxin fusion protein suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression. The 5th Asian Arden conference 2013/8/6-7
 49. Hitoshi Maeda, Hiroshi Watanabe, Yu Ishima, Masaki Otagiri, **Toru Maruyama** Kupffer cell selective delivery of thiols by genetically engineered mannosylated-albumin as a new therapeutic strategy for hepatitis. The 5th Asian Arden conference 2013/8/6-7
 50. 異島優、方軍、前田浩 渡邊博志、小田切優樹、**丸山徹** 高分子抗癌剤の腫瘍集積性を高める S-ニトロソ化アルブミンダイマーの EPR 効果増強作用 第 13 回日本 NO 学会学術集会 2013/6/28-29
 51. 成底徹、異島優、小谷俊介、中島誠、渡邊博志、小田切優樹、**丸山徹** 尿毒症物質インドキシル硫酸の生物活性に及ぼす活性酸化窒素種の影響 第 13 回日本 NO 学会学術集会 2013/6/28-29
 52. 渡邊博志、宮本洋平、田中寿絵、異島優、田中元子、松下和孝、深川雅史、小田切優樹、**丸山徹** 尿毒症物質 p-クレジル硫酸の酸化ストレス誘導を介した尿細管障害作用 第 58 回日本透析医学会学術集会総会 2013/6/21-23
 53. 南雲恒平、杉森剛志、阿部貴弥、申曾洙、渡邊博志、山田尚之、田中元子、松下和孝、小田切優樹、**丸山徹** ESI-TOF MS を用いた透析患者由来ヒト血清アルブミンの翻訳後修飾解析 第 58 回日本透析医学会学術集会総会 2013/6/21-23
 54. 前田仁志、平田憲史郎、渡邊博志、異島優、末永綾香、小田切優樹、**丸山徹** クッパー細胞選択的チオール送達によるアセトアミノフェン肝障害治療法の開発 日本薬剤学会第 28 年会 2013/5/23-5/25
 55. 小玉あずさ、田中遼大、渡邊博志、異島優、深川雅史、小田切優樹、**丸山徹** アルブミン-チオレドキシシン融合体によるシスプラチン腎症予防効果 日本薬剤学会第 28 年会 2013/5/23-5/25
 56. 異島優、方軍、前田浩、渡邊博志、小田切優樹、**丸山徹** 高分子抗癌剤の腫瘍集積性を高める S-ニトロソ化アルブミンダイマーの EPR 効果増強作用 日本薬剤学会第 28 年会 2013/5/23-5/25
 57. 佐藤弘樹、異島優、渡邊博志、山崎啓之、安楽誠、小田切優樹、**丸山徹** クルクミンと血清アルブミンの相互作用と抗酸化活性への影響 日本薬剤学会第 28 年会 2013/5/23-5/25
 58. 榎木裕紀、田中遼大、宮本洋平、異島優、渡邊博志、佐藤圭創、小田切優樹、**丸山徹** インフルエンザ肺障害に対するニューキノロン系抗菌薬の有効性評価 日本薬剤学会第 28 年会 2013/5/23-5/25
 59. 坂口義明、渡邊博志、宮本洋平、異島優、金子健一、岩田宏、小田切優樹、**丸山徹** 尿毒症物質 p-クレジル硫酸の腎排泄過程における hOATs の関与 日本薬剤学会第 28 年会 2013/5/23-5/25
 60. 渡邊博志、小玉あずさ、田中遼大、田中寿絵、異島優、深川雅史、小田切優樹、**丸山徹** アルブミン-チオレドキシシン融合蛋白質はヨード造影剤腎症の発症を予防する 第 56 回日本腎臓学会学術総会 2013/5/10-5/12
 61. **丸山徹**、宮崎裕理、田口和明、渡邊博志、宗慶太郎、田中元子、松下和孝、深川雅史、小

- 田切優樹 骨髄標的化エリスロポエチンの製剤設計と腎性貧血治療への応用 第 56 回日本腎臓学会学術総会 2013/5/10-5/12
62. 木下 遼、異島 優、成底 徹、小谷 俊介、中島 誠、渡邊 博志、小田切 優樹、丸山 徹. ニトロインドキシル硫酸による酸化ストレス産生メカニズムの解析. (第 14 回 日本 NO 学会学術集会 2014/5/16-17)
63. 本田 尚子、異島 優、宮崎 裕理、渡邊 博志、末永 綾香、小田切 優樹、丸山 徹. S-ニトロソ化アルブミンは腎性貧血改善と腎保護作用を併せ持つ新規慢性腎臓病治療薬である. (日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
64. 木下 遼、異島 優、池田 真由美、方 軍、前田 浩、小田切 優樹、丸山 徹. 新規 EPR 増強剤の一酸化窒素付加アルブミンダイマーは Doxil® の抗腫瘍効果を向上する. (日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
65. 橋本 麻衣、田口 和明、大柿 滋、渡邊 博志、藤山 淳史、土井 麻美、武岡 真司、半田 誠、小田切 優樹、丸山 徹. 血小板代替物 H12(ADP)リボソームの頻回投与時における体内動態特性(日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
66. 西田 健人、大柿 滋、田中 遼大、小玉 あずさ、渡邊 博志、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. 横紋筋融解症 AKI に対するアルブミン-チオレドキシシン融合体の有用性評価. (日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
67. 異島 優、井上 亜季、小田切 優樹、渡邊 博志、丸山 徹. 低酸素誘導オートファジーに対する Poly-S-ニトロソ化ヒト血清アルブミンの抑制効果. (日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
68. 丸山 徹、田中 遼大、異島 優、榎木 裕紀、小田切 優樹、渡邊 博志. インフルエンザ肺炎に対するヒト血清アルブミン-チオレドキシシン融合タンパク質の有効性評価. (日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
69. 渡邊 博志、南雲 恒平、瀬戸山 博子、田中 基彦、佐々木 裕、山田 尚之、異島 裕、小田切 優樹、丸山 徹. 新規肝硬変病態マーカーとしての Cys 付加アルブミンの有用性評価. (日本薬剤学会 第 29 年会 2014/5/20-22)
70. 丸山 徹、渡辺 佳織、異島 優. 多剤耐性菌に有効性を示す新規抗菌剤 SNO-AGP の創製. (第 88 回日本感染症学会学術講演会 2014/6/18-20)
71. 渡辺 佳織、異島 優、丸山 徹. 新規抗菌剤 SNO-AGP の多剤耐性菌に対する克服効果. (第 88 回日本感染症学会学術講演会 2014/6/18-20)
72. 今福 匡史、南雲 恒平、杉森 剛志、阿部 貴弥、申 曾洙、渡邊 博志、山田 尚之、田中 元子、松下 和孝、小田切 優樹、丸山 徹. 透析患者における新規酸化ストレスマーカーとしてのシステイン付加 Cys34 アルブミンの有用性評価. (第 57 回 日本腎臓学会学術総会 2014/7/4-6)
73. 戸田 翔太、渡邊 博志、弥永 直樹、濱崎 慶輔、國安 明彦、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. Renal Drug Delivery System を可能とする腎標的化ペプチドの網羅的探索. (第 57 回 日本腎臓学会学術総会 2014/7/4-6)
74. 小玉 あずさ、渡邊 博志、田中 遼大、近藤 真澄、WU Qiong、遠藤 正之、異島 優、深川 雅史、小田切 優樹、丸山 徹. アルブミン-チオレドキシシン融合体によるシスプラチン腎症予防効果. (第 57 回 日本腎臓学会学術総会 2014/7/4-6)
75. 渡邊 博志、宮本 洋平、榎木 裕紀(D3)、異島 優、深川 雅史、小田切 優樹、丸山 徹. 尿毒症物質 p-クレジル硫酸の酸化ストレス誘導を介した血管障害作用. (第 57 回 日本腎臓学会学術総会 2014/7/4-6)
76. 木下 遼、異島 優、池田 真由美、方 軍、前田 浩、小田切 優樹、丸山 徹. 新規 EPR 増強剤の一酸化窒素付加アルブミンダ

- イマーは Doxil の抗腫瘍効果を向上する。(第 30 回 日本 DDS 学会学術集会 2014/7/30-31)
77. 西田 健人、大柿 滋、田中 遼大、小玉 あずさ、渡邊 博志、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. 横紋筋融解症 AKI に対するアルブミン-チオレドキシシン融合体の有用性評価。(第 30 回 日本 DDS 学会学術集会 2014/7/30-31)
78. 異島 優、方 軍、前田 浩、渡邊 博志、小田切 優樹、丸山 徹. PEG 化や 2 量体化により増強する S-ニトロソ化ヒト血清アルブミンの抗腫瘍活性。(第 30 回 日本 DDS 学会学術集会 2014/7/30-31)
79. 西田 健人、大柿 滋、田中 遼大、小玉 あずさ、渡邊 博志、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. 横紋筋融解症 AKI に対するアルブミン-チオレドキシシン融合体の有用性評価。(第 39 回 西日本薬剤学研究会 2014/8/29-30)
80. 渡邊 博志、宮本 洋平、異島 優、深川 雅史、小田切 優樹、丸山 徹. 尿毒症物質パラクレジル硫酸による NADPH oxidase 活性化を介した尿細管及び血管障害作用。(第 26 回 腎とフリーラジカル研究会 2014/9/20)
81. 渡邊 博志、南雲 恒平、田中 遼大、小玉 あずさ、異島 優、山田 尚之、瀬戸山 博子、田中 基彦、佐々木 裕、田中 元子、深川 雅史、小田切 優樹、丸山 徹. 酸化ストレス関連疾患とトランスレーショナルリサーチ。(第 8 回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2014/11/15-16)
82. 永尾 紗理、田口 和明、田中 遼大、酒井 宏水、渡邊 博志、小田切 優樹、丸山 徹. 一酸化炭素付加型ヘモグロビン小胞体は抗炎症・抗酸化作用を介してブレオマイシン誘発肺線維症を抑制する。(第 8 回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2014/11/15-16)
83. 皆吉 勇紀、田中 遼大、異島 優、榎木 裕紀、渡邊 博志、小田切 優樹、丸山 徹. インフルエンザウイルスによる肺障害マウスに対するヒト血清アルブミン-チオレドキシシンの治療効果。(第 8 回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2014/11/15-16)
84. 池田 真由美、異島 優、木下 遼、渡邊 博志、池田 剛、小田切 優樹、丸山 徹. PDE5 阻害剤は Poly-S ニトロソ化ヒト血清アルブミンの cGMP 誘導性アポトーシスを増強する。(第 8 回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2014/11/15-16)
85. 丸山 徹、渡辺 佳織、異島 優、小川 和加野、黒田 照夫、小田切 優樹. S-ニトロソ化 $\alpha 1$ -酸性タンパク質による抗生物質の多剤耐性克服と機序解明。(第 36 回 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2014/11/20-21)
86. 異島 優、井上 亜希、方 軍、渡邊 博志、前田 浩、小田切 優樹、丸山 徹. ベバシズマブの抗腫瘍活性に及ぼす Poly-S-ニトロソ化ヒト血清アルブミンの併用効果。(第 36 回 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2014/11/20-21)
87. 西田 健人、大柿 滋、田中 遼大、小玉 あずさ、渡邊 博志、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. 横紋筋融解症 AKI に対するアルブミン-チオレドキシシン融合体の治療効果と機序解明。(第 31 回 日本薬学会九州支部大会 2014/12/6-7)
88. 木下 遼、異島 優、池田 真由美、方 軍、前田 浩、渡邊 博志、小田切 優樹、丸山 徹. ナノ EPR 増強剤の NO 付加アルブミンダイマーは高分子抗癌剤の腫瘍移行性と抗腫瘍効果を増強する。(第 31 回 日本薬学会九州支部大会 2014/12/6-7)
89. 戸田 翔太、渡邊 博志、弥永 直樹、濱崎 慶輔、國安 明彦、長谷川 功紀、後藤 久美子、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. Renal DDS を可能とする腎標的化ペプチドの網羅的探索と腎送達能の評価。(第 31 回 日本薬

学会九州支部大会 2014/12/6-7)

90. 池田 真由美、異島 優、木下 遼、渡邊 博志、池田 剛、小田切 優樹、丸山 徹. PDE阻害剤はNO付加ヒト血清アルブミンの抗癌作用を増強する.(第31回 日本薬学会九州支部大会 2014/12/6-7)
91. 皆吉 勇紀、田中 遼大、異島 優、榎木 裕紀、渡邊 博志、小田切 優樹、丸山 徹. インフルエンザ誘発急性肺障害に対するアルブミン-チオレドキシニン融合体の有用性評価.(第31回 日本薬学会九州支部大会 2014/12/6-7)
92. 橋本 麻衣、田口 和明、大柿 滋、異島 優、渡邊 博志、西川 可穂子、木下 学、武岡真司、池田 康夫、半田 誠、小田切 優樹、丸山 徹. 血小板減少状態における血小板代替物 H12 (ADP) リポゾームの体内動態解析.(第21回 日本血液代替物学会年次大会 2014/12/8-9)
93. 丸山 徹、前田 仁志、田口 和明、異島 優、渡邊 博志、木下 学、小田切 優樹. CD68⁺CD206⁺クッパー細胞選択的ナノ抗酸化剤のポリチオール付加マンノースアルブミンは急性肝障害を抑制する.(第21回 日本血液代替物学会年次大会 2014/12/8-9)
94. 大柿 滋、田口 和明、西田 健人、小玉 あずさ、渡邊 博志、異島 優、深川 雅史、小田切 優樹、丸山 徹. 横紋筋融解症誘発急性腎障害に対するアルブミン-チオレドキシニン融合体の治療効果と機序解明.(第21回 日本血液代替物学会年次大会 2014/12/8-9)
95. 大柿 滋、西田 健人、小玉 あずさ、渡邊 博志、異島 優、小田切 優樹、深川 雅史、丸山 徹. 横紋筋融解症誘発急性腎障害に対するアルブミン-チオレドキシニン融合体の有用性評価.(第5回 腎不全研究会 2014/12/13)
96. 丸山 徹、成底 徹、渡邊 博志、小田切 優樹、深川 雅史、異島 優. 新規尿毒症物質ニトロ化インドキシル硫酸の活性酸素誘導能.(第5回 腎不全研究会 2014/12/13)
97. 渡邊 博志、西田 健人、大柿 滋、田中 遼大、小玉 あずさ、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹. 横紋筋融解症 AKI に対するナノ抗酸化炎症モジュレーター腎保護効果.(日本薬学会第135年会 2015/3/25-28)
98. 丸山 徹、異島 優、成底 徹、小谷 俊介、中島 誠、渡邊 博志、小田切 優樹. 尿毒症物質インドキシル硫酸の酸化修飾体に関する構造特性と生物活性.(日本薬学会第135年会 2015/3/25-28)

G. 知的財産権の出願。登録状況(予定を含む)
該当なし

平成 24-26 年度 厚生労働科学研究費補助金
(創薬基盤推進研究事業：政策創薬総合研究事業)

分担、総合研究報告書

人工血小板/H12(ADP)リポソーム：臨床研究への移行を目指した品質管理と
薬物試験 (H24-創薬総合-一般-008)

H12-(ADP)小胞体の安全性評価：血栓誘発性の検討/DIC ラットモデルでの検討

研究分担者 半田 誠 (慶應義塾大学医学部輸血・細胞療法センター教授)
研究協力者 丸山 仁美 (同 技術員)
渡邊 直英 (同 助教)

研究要旨

H12-(ADP)小胞体は、残存血小板の機能を介して止血血栓の形成を促進し、血小板輸血に匹敵する止血効果を発揮することが血小板減少症動物モデルで示されてきた。一方、止血血栓の促進作用が過度になることで、病的血栓の誘発が危惧されてきたが、今までの種々の *in vitro* 及び *in vivo* 実験系においては病的血栓の誘発作用を示唆するデータは認められてこなかった。そこで今回は、血栓準備状態としてより鋭敏に血栓症誘発作用を評価できる2種類のラット DIC モデル (出血優位型：トロンボプラスチン誘発性と血栓優位型：エンドトキシン誘発性) を作成して、当該小胞体の作用を評価した。その結果、陰性対照小胞体 (H12 未修飾、ADP 未内包 PBS 内包小胞体) と比較して、H12-(ADP)小胞体は、検討した bolus での投与量の範囲内 (常用量：20 mg/kg、中高用量：40 mg/kg、高用量：80 mg/kg) で生体内での血栓傾向を反映する諸マーカーの変動に有意な影響を及ぼさなかった。今後は安全性試験として、投与量を大幅にエスカレート (1,000 mg/kg まで) させ、当該試験物の安全性を確認する必要がある。

A. 研究目的

H12-(ADP)小胞体は、止血局所で、残存した活性化血小板間を架橋して血小板凝集形成を促進させながら ADP を放出して、血小板輸血に匹敵した止血能を発揮することを、血小板減少動物モデルを対象に *in vivo* にて証明してきた。当該製造物の副作用として最も危

惧されるのが、血栓症の誘発、増強作用である。いままで種々の *in vitro*、*in vivo* の検討を行ってきたが、1) 薬物自体に、血小板を活性化させる作用 (P-セレクチンの発現や血小板凝集の惹起作用など) は認められず、2) ラット動脈血栓症モデル (精巣動脈血栓症) での血栓症誘発・促進作用を認め

ず、3) 種々の薬効モデル (マウス、ラット、ウサギ) で血栓症を示唆する副作用 (組織学的検討を含む) を認めなかった。そこで、さらに鋭敏な系での血栓誘発・促進作用を検討すべく血栓準備状態を含んだ2種類のラットDICモデル (出血優位型: トロンボプラスチン誘発性、及び血栓優位型: エンドトキシン誘発性) を確立し、当該製造物による血栓症 (静脈系) 誘発・促進作用を評価した。

B. 研究方法

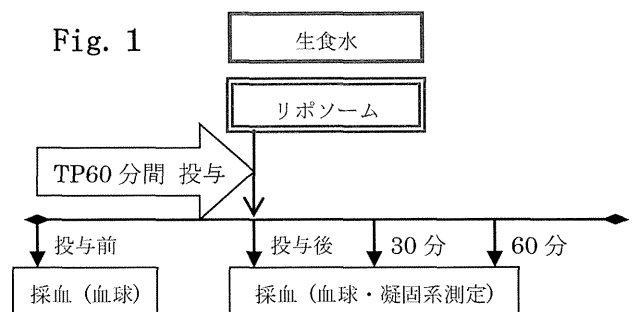
<トロンボプラスチン誘発 DIC ラットモデル>

Wistar 系雄性ラット (三共ラボ、7週齢、200-220g) は、一晚 (最低16時間) 絶食した後、以下の実験に用いた。ラットは、拘束衣にて固定し尾静脈より小胞体およびトロンボプラスチン (TP) を投与し、その後、腹部大動脈より3.13% クエン酸ナトリウム入真空採血管を用いて採血した。この血液検体を、遠心分離 (2,200g, 10 min) し、血液凝固検査用血漿を回収した。血液凝固検査として、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン抗原量 (Fng)、アンチトロンビン活性 (ATIII)、D-ダイマーの5項目を測定 (三菱化学メディエンスに委託) した。血球数は、自動血球計算計 (K-4500, Sysmex) にて測定した。

拘束衣にて固定したラットの尾静脈に留置針を設置し、8倍に生食で希釈したトロンボプラスチン (TP) (トロンボチェック PT プラス, Sysmex、ウサギ脳由来トロンボプラスチン+乳酸カルシ

ウム) (2 ml) を1時間かけて、留置針よりシリンジポンプ (Apparatus pump198, Harvard) を用いて持続投与した。そして、終了直後に H12 (ADP) 小胞体 (20mg/kg、40mg/kg、80mg/kg 相当量を1mLのPBSに懸濁) を投与した。生理食塩水および陰性対照小胞体 (H12未修飾、ADP未内包PBS内包小胞体: mock小胞体) (80mg/kg) を陰性対照とした。TP投与終了直後、30分後、60分後に採血を行い、血小板数、凝固検査、血栓症マーカーの測定を行った (Fig. 1)。

Fig. 1



<エンドトキシン誘発 DIC ラットモデル>

一晚絶食し、拘束したWistar系雄性ラット (三共ラボ、7週齢、200-220g) は、一晚 (最低16時間) の尾静脈よりエンドトキシン (LPS, E. coli 055:B5) を投与し、その後、腹部大動脈より3.13% クエン酸ナトリウム入真空採血管・凝固促進フィルム入真空採血管を用いて採血した。この血液検体を、遠心分離 (2,200g, 10 min) し、血液凝固検査用血漿と臓器障害検査用血清を回収した。血液凝固検査は、トロンビンアンチトロンビンIII複合体 (TAT)、PAI-1は測定キットを使用し測定した。フィブリノゲン抗原量 (Fng)、アンチトロンビン活性 (ATIII)、D-ダイマー、の3項目と臓器障害検査は血中アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、