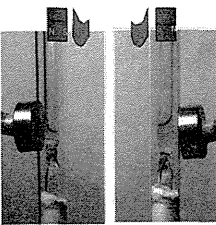


## 磁石にくっつく酸素分子

$\cdot\cdot$   
 $\cdot\text{O}:\text{O}:$   
 $\cdot\cdot$   
 $\cdot\cdot$

: 対電子    / 不對電子

$\text{O}_2$ : 三重項酸素分子



京大 小島憲法先生  
 液体酸素@-253℃

## カルフォルニア大学バークレー校 ノーベル賞受賞者用駐車場



2013年4月15日

## 本日お話しする内容

- 量子力学とは？
- 電子とは？
- 量子力学を用いた物質設計
- 化粧品の開発(新規紫外線吸収剤)
- 心不全薬の解析
- 有機磁性体を用いた抗がん剤の開発

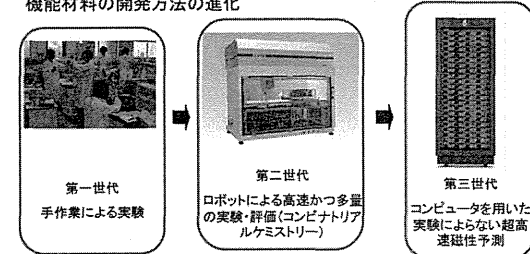
## 1. 技術概要: 2) 何に適用できるか？

IHI

物質機能の予測、評価が可能

たとえば、発光、発光色、電気伝導度、磁性特性・・・等

機能材料の開発方法の進化



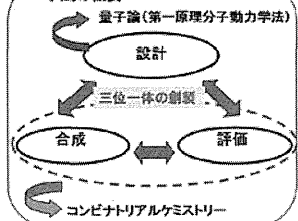
## 新規 機能材料の探索研究

Explore the Engineering Edge  
IHI

背景:

機能材料の新規特性を引き出すためには原子レベルの設計・合成・評価方法が必要です。本研究では第一原理分子動力学法とコンビナトリアルケミストリーを用い新規発光素子・熱電材料の創製を行っています。

手法の概要:



今後の展開:

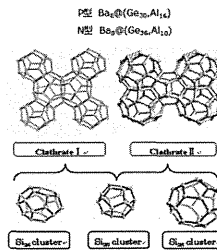
現在取り組んでいる無機材料(熱電材料・発光素子)から有機材料(タンパク質、高分子)へも本技術を展開しています。

## 新規機能材料の合成・評価・設計

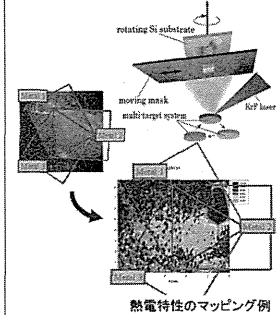
Explore the Engineering Edge  
IHI

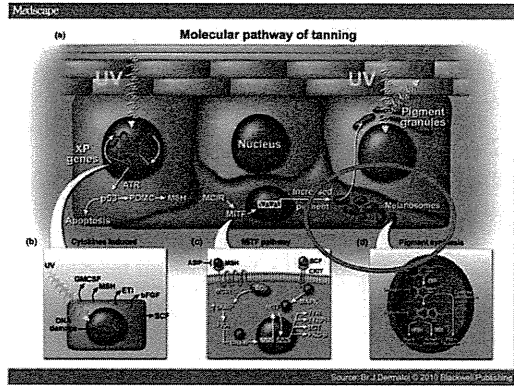
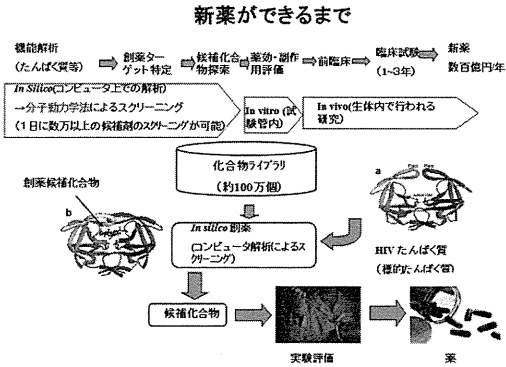
第一原理計算による材料設計  
(発光素子・高効率熱電材料の探索)

新規なクラスレート化合物の発見・合成に成功



コンビナトリアル手法による材料合成の試み





### 1. 技術概要: 1) 第一原理分子動力学とは? IHI

第一原理分子動力学法とは→物質の電子の振る舞いを調べる

数値解析法の一つ

原子間力から各原子の加速度を求める(量子力学)

各原子の加速度を積分して次に動く原子の位置を求める(古典力学)

1980年以前: 簡単な物質への適用

現在: 解析手法と計算機の進化によりすべての物質へ

例: 鉄鋼材料からDNA

### 日焼けする薬

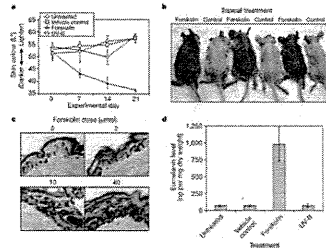
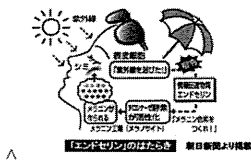


Figure 2 | Forskolin, but not UVB, rescues melanin production in mice with defective MSH signaling. a, Reflective colorimetric measurements (CIE L\* white-black color axis) of skin darkening of  $Ab1^{+/+}$ ,  $K14-Cre$  transgenic,  $depl1$   $Ab1^{+/+}$  mice either topically treated with vehicle control (DMSO) or forskolin (30% propylene glycol, extracted with 200  $\mu$ l  $10^{-2}$  M) for 21 days. b, Side-by-side photographs of vehicle-treated or forskolin-treated  $Ab1^{+/+}$ ,  $K14-Cre$  animals. c, Histological sections of skin from vehicle-treated or forskolin-treated mice. d, Melanin levels in skin from vehicle-treated or forskolin-treated mice. Lower numbers represent dorsal skin sites, higher numbers represent ventral skin sites. Scale bars represent 1 mm. \* indicates statistical significance. Measurements were done in triplicate. Different anatomical locations within the treated skin fields are indicated by letters. Measurements in mouse skin experiments were repeated many times with similar results. b, Side-by-side photographs of vehicle-treated or forskolin-treated  $Ab1^{+/+}$ ,  $K14-Cre$  animals. c, Histological sections of skin from vehicle-treated or forskolin-treated mice. d, Melanin levels in skin from vehicle-treated or forskolin-treated mice. Lower numbers represent dorsal skin sites, higher numbers represent ventral skin sites. Scale bars represent 1 mm. \* indicates statistical significance. Measurements were done in triplicate.

### 美白化粧品



ステップ1: 「紫外線」「肝臓や腎臓の動きの低下」「精神的動揺やストレス」「生理前や妊産中」「ヒル服用中などの状況」が情報伝達物質エンドセリンヘメラニン色素を作る指令をだす。

ステップ2: 情報伝達物質エンドセリンがメラノサイトにあるチロシナーゼ酵素が活性化される

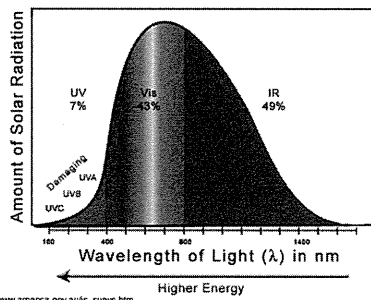
ステップ3: チロシナーゼ酵素が酪氨酸の作用をしてメラニンが作られる

ステップ4: メラニンは表皮細胞に分泌、受け取られターンオーバー(肌の脱皮のようなもの)の流れる

ステップ5: ターンオーバーの流れたらメラニンはやがて角質細胞内の古くなった角質と共に剥離消滅する。

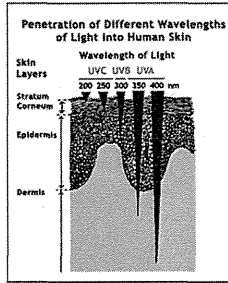
美白効果成分(エラグ酸(チロシナーゼの活性化阻害効果)、ビタミンA(チロニール)(ターンオーバーの促進))を磁性化できないか?

### Sun Radiation



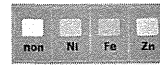
Source: <http://www.aprpsa.gov.au/sunys.htm>

## Skin Damage

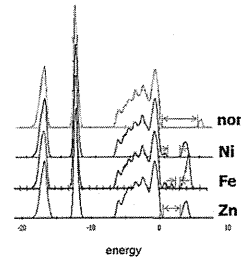
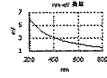


- Very high energy radiation (UVC) is currently absorbed by the ozone layer
- High energy radiation (UVB) does the most immediate damage (sunburns)
- Lower energy radiation (UVA) can penetrate deeper into the skin, leading to long term damage

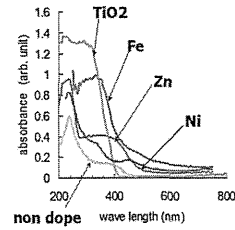
Source: N.K. Shaoh, The Chemistry of Sunscreens. In: Lowe HJ, Shaoh NA, Pathak MA, editors. Sunscreens: development, evaluation, and regulatory aspects. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 203-205.



### Results (1)



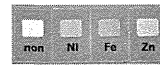
Density of states (cal)



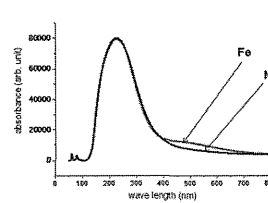
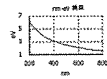
Absorption spectra (exp)

## Absorption Summary

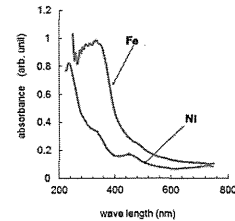
	Atoms	Organic Molecules	Inorganic Compounds
Energy Levels			
Absorption Spectrum			



### Results (2)



Absorption spectra (cal)  
(polycrystalline approx.)



Absorption spectra (exp)

## What we can deliver in UV materials

1. **Predict light absorption wavelength**  
related patents : P2010-095481 (J) and more.
2. **Predict a color of ultraviolet absorption material**  
related patents : P2010-095481 (J) and more.

## 本日お話しする内容

- 量子力学とは？
- 電子とは？
- 量子力学を用いた物質設計
- 化粧品の開発(新規紫外線吸収剤)
- 心不全薬の解析
- 有機磁性体を用いた抗がん剤の開発

# はじめに

目的: 第一原理分子動力学法の解析結果と生化学的実験の比較を行う  
 → 第一原理分子動力学法は創薬に適用可能か?

自立神経を調整する薬  
 → 心筋の収縮、血圧の上昇、血管の収縮、気管の拡張等  
 ↓  
 活性酵素(アデニル酸シクラーゼ) + 薬(フォルスコリン: インド原産の生薬)

横浜市大では日本化薬と共同で心不全の薬、やせ薬、制ガン剤(創薬修飾したフォルスコリン)を開発  
 データベース(850,000) → 古典分子動力学法(200) → 実験(200) → 6種類

## 電子状態の解析 (福井関数、フロンティア軌道論)

・ 電子を受け取りやすい(酸は電子受容体なのでLUMOが関係)

f(+) (LUMO) (Nucleophilic)

$$f^+(r) = \frac{1}{\Delta V} \{ \rho_{N-1}(r) - \rho(r) \}$$

・ 電子を放出しやすい(塩基等は電子供与体のためHOMOが関係)

f(-) (HOMO) (Electrophilic)

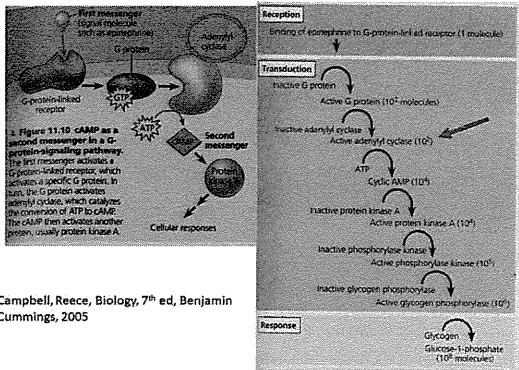
$$f^-(r) = \frac{1}{\Delta V} \{ \rho(r) - \rho_{N+1}(r) \}$$

・ 上記両方の可能性がある場合

f(0) (Radical)

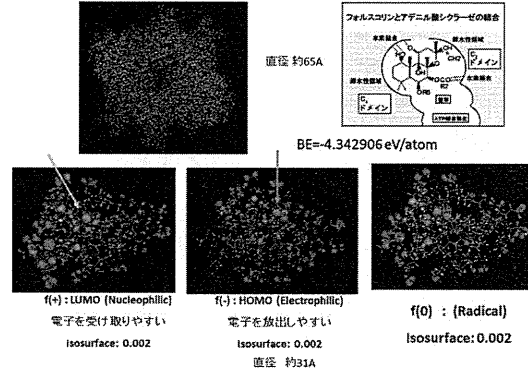
$$f^0(r) = \frac{1}{2} \{ f^+(r) + f^-(r) \}$$

## 神経シグナルの伝達

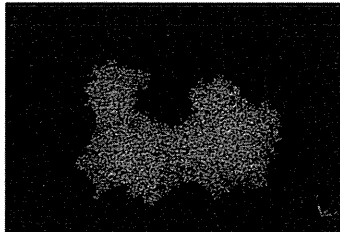


Campbell, Reece, Biology, 7th ed, Benjamin Cummings, 2005

Adenylyl Cyclase + Forskolin (PDB file: 1A88)

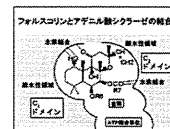


Adenylyl Cyclase (1A2S) (total number of atoms: 14137)

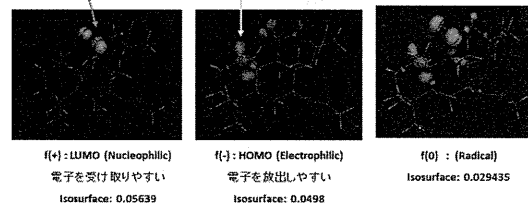


Time step (fs):	1
total time (fs):	5000
Total energy (kcal/mol):	-120369.428
Potential energy (kcal/mol):	-131769.521
Kinetic energy (kcal/mol):	11400.093
Temperature (K):	270.697

Forskolin



BE=5.264712 eV/atom



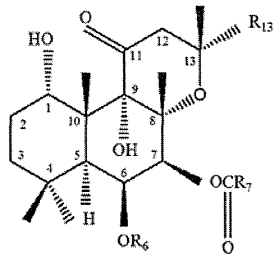


図 フォルスコリン誘導体の模式図

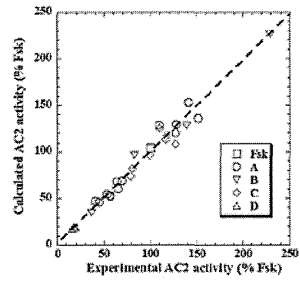


Fig. 47. Comparisons with experimental AC2 activity and calculated AC2 activity

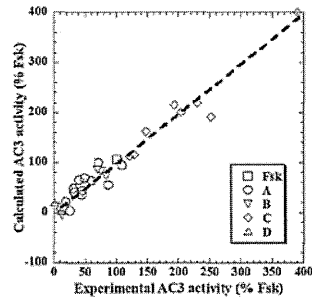
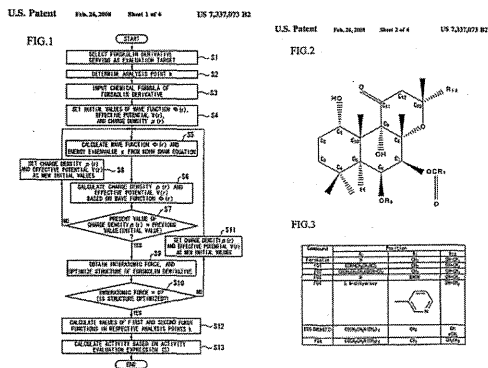


Fig. 48. Comparisons with experimental AC3 activity and calculated AC3 activity

新しい構造活性相関評価法 (米国・日本特許登録済)

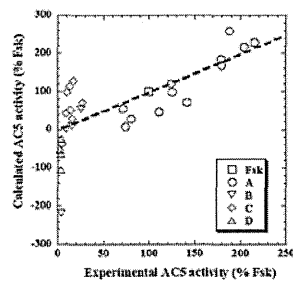
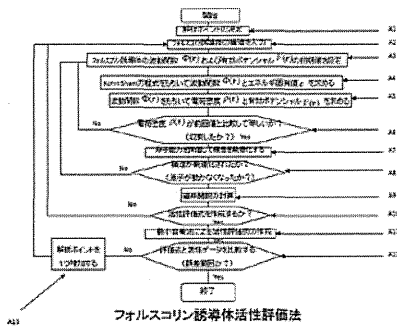


Fig. 46. Comparisons with experimental ACS activity and calculated ACS activity

結論

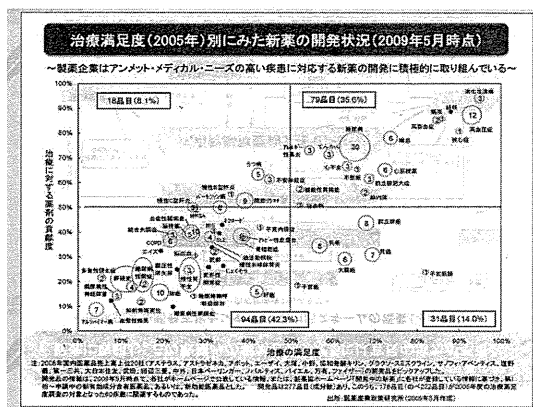
1. 薬候補化合物の電子状態を解析することで薬候補化合物とタンパク質の相互作用が明らかにすることができる
2. 薬候補化合物+タンパク質活性部位の電子状態を解析することでそれらの相互作用を明らかにすることができる。

特許:

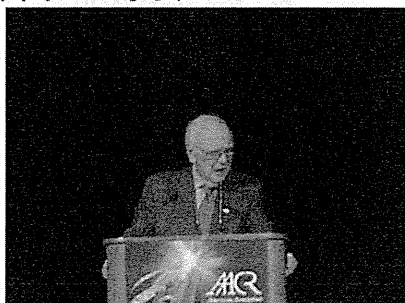
特許申請済: 国内1件、米国1件

論文:

Eguchi et al., *Letters in Drug Design & Discovery*, 2007, 4, 434-441



米国がん学会: James D. Watson



2013年4月6日、ワシントンDC

抗がん剤投与量の決定方法

腎機能正常者

体表面積から求める

Pinkel, D. The use of body surface area as a criterion of drug dosage in cancer chemotherapy. *Cancer Res* 18, 853-856 (1958).

腎機能障害者

腎機能補正

カルバートの式: 投与量=AUC × (糸球体濾過量+25) (カルボプラチン)  
Calvert AH. Carboplatin dosage: prospective evaluation of a simple formula based on renal function. *J Clin Oncol*, 7, 1748-1756, (1989)

本日も話す内容

- 量子力学とは?
- 電子とは?
- 量子力学を用いた物質設計
- 化粧品の開発(新規紫外線吸収剤)
- 心不全薬の解析
- 有機磁性体を用いた抗がん剤の開発

治療の見込みのないがん患者様を救えないか?

肝臓、腎臓機能が低下している場合は抗がん剤治療が極めて困難である。

特に「治療の貢献度」かつ「治療の満足度」がともに低い慢性腎不全、糖尿病腎症、肝硬変を併発しているがん患者さんの治療に重大な問題

現在市販薬は、腎、肝機能が低下しているがん患者様のアンメット・メディカル・ニーズを充足できるのか?

### 肝機能障害者への抗がん剤の投与量(経験則より算定)

T-値	トランスアミナーゼ	ALP	投与量
Cyclophosphamide	3.1 ~ 5.0ng/dl	AST > 180	75%
	> 5.0ng/dl以上		投与中止
Ifosfamide	> 3mg/dl以上	AST > 300	25%
S-FU	> 5.0mg/dl以上		投与中止
Doxorubicin		ALTあるいはASTが正常上限の2~3倍	75%
		ALTあるいはASTが正常上限の3倍より高い	50%
			投与中止
Etoposide	1.5 ~ 3.0mg/dl	AST > 180	50%
Irinotecan	正常上限の1.5 ~ 3.0倍		75%
Paclitaxel	< 1.5mg/dl	正常上限の2倍以上	75%
	1.6 ~ 3.0mg/dl		40%
	> 3.0mg/dl		25%
Vincristine	2.1 ~ 3.0mg/dl		上昇あり
Vincoreline	> 3.0mg/dl		25%

出典 <http://clinicalpath.jp/cnt07s/08.html>

Company Profile 221

3D-Animation 222

For Patients 223

Neuro-Oncology 224

Clinical Results 225

### 磁性体の温熱療法への応用 (現代)

**magforce**  
Fighting Cancer with Nanomedicine.

The first NanoTherm® therapy center for the treatment of brain tumors in Germany has been established at the Charité – Universitätsmedizin Berlin, Department of Radiation Oncology and Radiotherapy.

The principle of the therapy is the use of nanoparticles containing ironoxide, which are injected into solid tumors as a procedure similar to a biopsy. The patient is then placed in a magnetic field applicator (Nano-Activator®), a machine that produces an alternating magnetic field and is very safe for humans. Through this high frequency magnetic field, the nanoparticles begin to oscillate and warm up, and are produced from directly within the tumor tissue. Depending on the temperature reached and length of treatment, the tumor cells are either directly destroyed or sensitized for the accompanying chemotherapy or radiation.

出典 <http://www.magforce.de/english/home1.html>

### 肝腎機能が低下した患者への抗がん剤投与量の決定

肝腎機能低下のため抗がん剤不適応な癌患者に対する抗がん剤 (オーファンドラッグの要件)

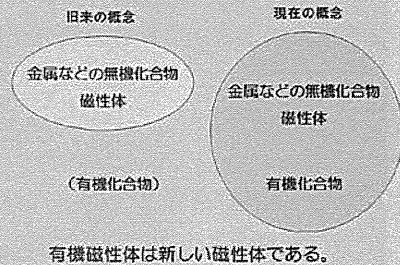
初回投与後に直ちに

- がん組織への移行量(治療効果の予測)
- 肝臓への移行量(肝機能障害の予測)
- 腎臓への移行量(腎機能障害の予測)

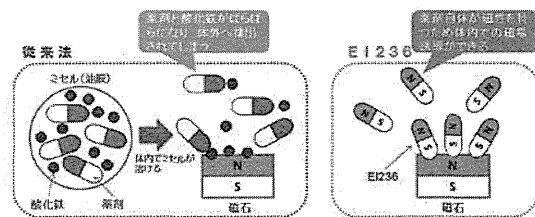
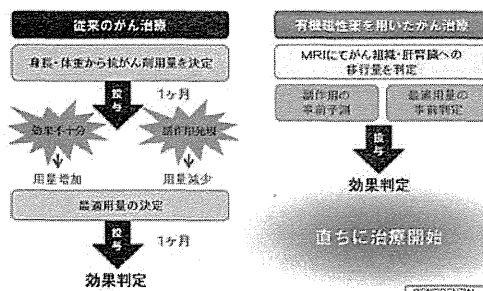
が患者別に判定できる抗がん剤

画像で定量できる抗がん剤

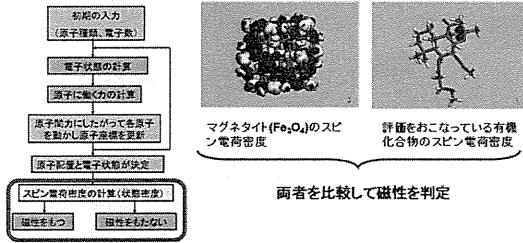
### 磁性体の概念の変化



### 3. 新しい個別化医療のコンセプト

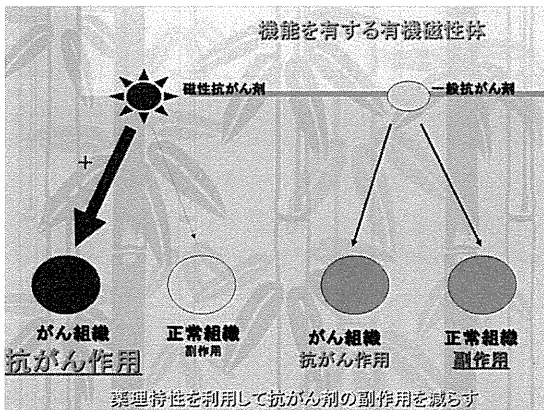
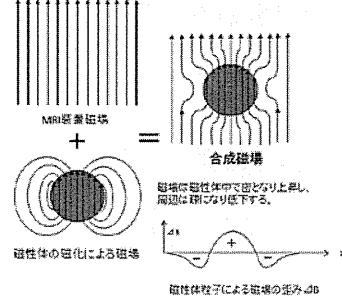


## 有機磁性体のスクリーニングおよび設計方法 (特許第4279330号)



## 有機磁性体を用いたMRI撮像法

DDSにより有機磁性体をがんへ誘導すると、



## 説明の方法

既知の現象があれば比較から始める

既知の現象がまったくない場合

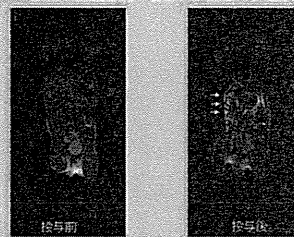
可能な限り多くの実例を示す

## 特許の取得状況

■ これまでに75件以上の関連特許を出願し、うち国内で15件、米国で2件、欧州で2件が登録されています。  
【代表登録特許】

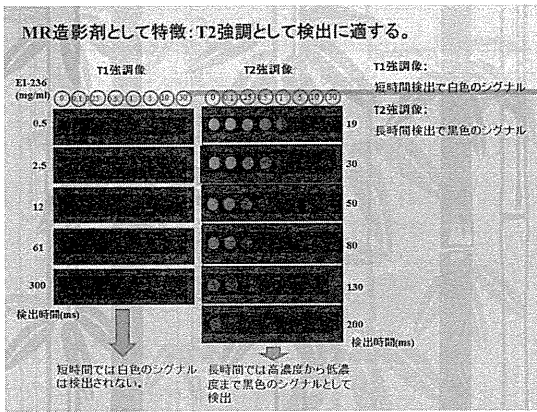
登録特許番号	出願日	発明の名称	概要
【日本】 特許 4279330号	2007年 6月18日	薬、薬の誘導装置 及び薬の設計方法	有機磁性体設計技術。 スーパー早期審査を経て特許登録
【ヨーロッパ】 EP 1920370 B1	2006年 8月23日	Magnetic drug, magnetic drug guidance system and magnetic drug design	有機磁性薬の基本コンセプト、その設計技術 ヨーロッパ特許庁(ドイツ、 ミュンヘン)で裁判(oral proceedings)を行い権利化
【米国】 US 8,246,975 B2	2007年 6月28日	Drug, drug guidance system, magnetic detection system, and drug design method	有機磁性薬の基本コンセプト、その設計技術 米国特許庁の担当審査官に 対して現地で直接技術説明 をして権利化

## 有機磁性体としてのMRI造影剤



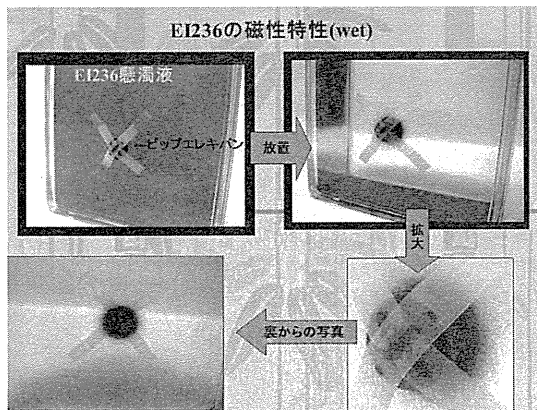
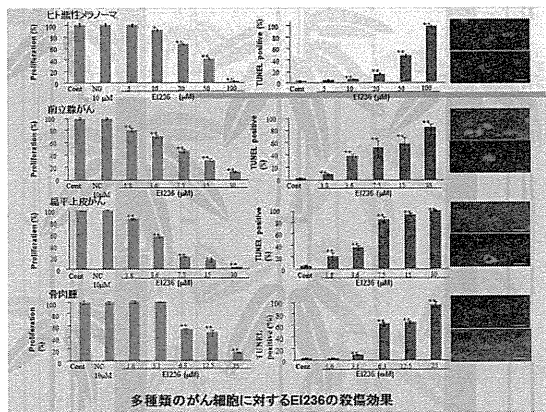
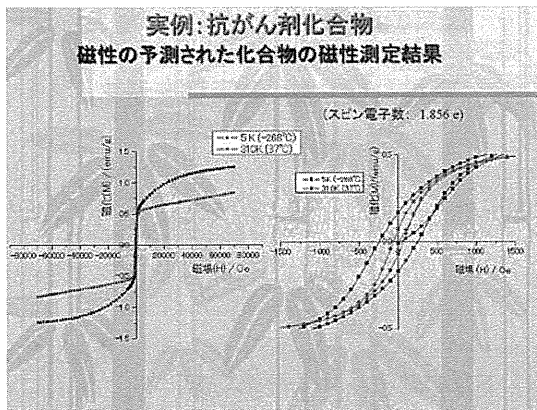
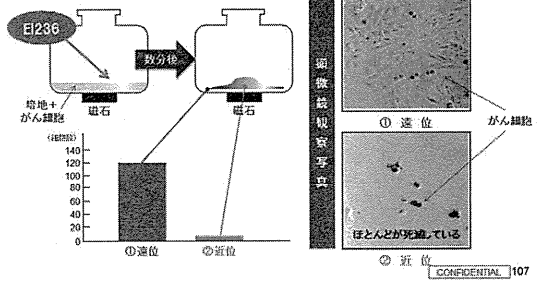
投与後にMRIによって  
可視化して薬物の動態を確認





### 6 事例① 抗腫瘍活性に関する試験管内実験

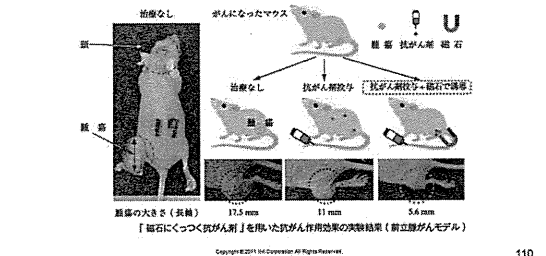
■ 角型フラスコにがん細胞を培養し、EI236を添加した後に、中心部に磁石を当て経過を観察しました。  
■ その結果、磁石に近く、EI236が凝集している部位のがん細胞が死滅することを確認しました。  
(細胞殺傷効果が現れるのは24~48時間後)

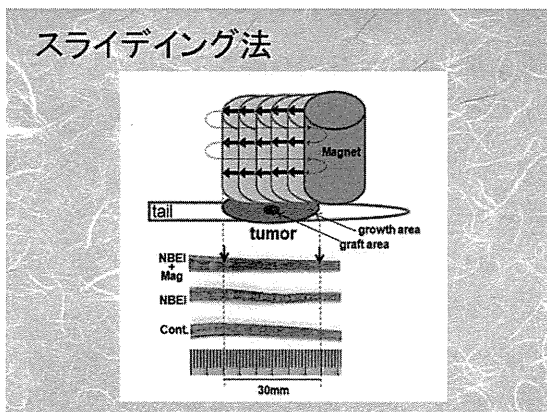
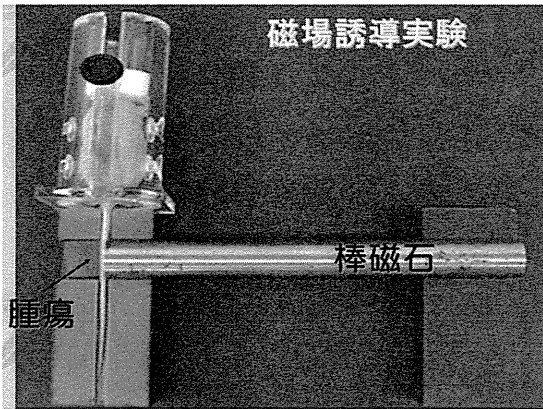


### 7 事例② 担がんマウスでの治療効果(前立腺がん移植モデル)

■ マウスの左足の付け根に前立腺がん細胞を移植した後、EI236を投与したうえで、磁石を患部に当て、磁場誘導をした場合/しない場合を比較しました。

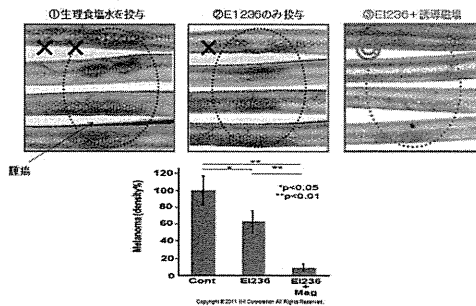
■ その結果、EI236を投与したのみに比べ、誘導磁場を用いた場合には、腫瘍が格段に縮小することがわかりました。





8. 事例③担がんマウスでの治療効果(メラノーマ細胞移植モデル)

■ 12日間の実験の結果、EI236を投与したのみに比べ、誘導磁場を用いた場合には、腫瘍の面積が格段に縮小することが明らかになりました。



114

# 市販薬の磁性化

3) EI236 分散剤 ジオクチルスルホコハク酸ナトリウムのラットにおける4週間間歇静脈内投与予備毒性試験

## 1. 試験目的

ジオクチルスルホコハク酸ナトリウムをラットに単回静脈内投与し、予備的に毒性を確認した後、ラットに週1回4週間間歇静脈内投与し毒性変化を予備的に調べた。

## 2. 適用規則

本試験は、適用規則なしとした。

## 3. 動物福祉

本試験は、株式会社新日本科学 安全性研究所の動物実験委員会により承認されており(承認番号 IACUC371-004)、当研究所の動物実験規程に従って実施した。なお、試験施設は AAALAC International により認証されている。

## 4. 試験委託者

株式会社 IHI 基盤技術研究所

〒235-8501 横浜市磯子区新中原町一番地

## 5. 試験施設

株式会社新日本科学 安全性研究所  
〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町  
2438 番地

(許容範囲：15～25℃)

取扱い：

マスク、キャップ、手袋及び保護眼鏡  
を着用した。

## 6. 試験日程

投与開始前日を-1日目、投与開始日を投与  
0日目、投与開始週を投与1週目と起算し  
た。

試験開始日：2015年2月19日  
検疫馴化開始日：2015年2月19日  
検疫終了日：2015年2月25日  
単回投与群

馴化終了日／群分け日：  
2015年2月25日  
投与日：2015年2月26日  
剖検日：2015年3月5日

単回投与群

馴化終了日／群分け日：  
2015年3月2日  
投与日：2015年3月3日  
剖検日：2015年3月10日

## 7. 材料及び方法

### 7.1 被験物質及び対照物質（媒体）

#### 7.1.1.1 被験物質

名称：

ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム  
提供者：株式会社 IHI 基盤技術研究所  
ロット番号：XYN51-BT

特性

純度：>95.0%

入手日：2015年2月20日

入手量：500g

保存条件：室温

保存場所：被験物質保管所内常温室

残余被験物質：

すべて試験委託者に返却する。

#### 7.1.1.2 対照物質（媒体）

名称：注射用水

製造者：株式会社大塚製薬工場

## 7.2 被験物質調製液

調製濃度：

0.0025, 0.025, 0.125, 0.25, 0.5, 1.25

及び2.5 w/v%

換算係数：

なし

調製方法：

被験物質の必要量を採取し、媒体を加えて  
調製量にメスアップし、0.25 または 2.5  
w/v%溶液を調製する。0.25 または 2.5 w/v%  
溶液に媒体を加え、段階希釈して1.25, 0.5,  
0.25, 0.125, 0.025 または 0.0025 w/v%溶液  
を調製した。

## 7.3 被験物質の投与

投与経路：静脈内

投与経路の選択理由：

後の毒性試験で用いる投与経路が静脈  
内投与であるため、本試験でも静脈内投  
与を選択した。

投与方法：

ディスポーザブル注射筒及び注射針を

用いて尾静脈内に投与した.

投与方法の選択理由:

ラットの静脈内投与では通常用いられる方法である.

投与回数及び投与期間

単回投与群:

1回(単回投与)

間歇投与群:

週1回, 4週間投与(計4回投与)

投与回数及び投与期間の選択理由

単回投与群:

単回投与時の毒性変化を予備的に調べるため.

間歇投与群:

4週間間歇投与したときの毒性を確認するため.

投与容量:

投与液量は, 最新の体重を基に個別に算出した.

投与速度: 1 mL/min

投与時刻: 08:30~13:30

#### 7.4 試験系

種: ラット  
系統: Cr1:CD (SD)  
体重  
検疫馴化開始時: 104 ~ 122 g  
週齢  
検疫馴化開始時: 5週齢  
単回投与时: 6週齢

反復投与開始時: 7週齢

入手日: 2015年2月19日

入手動物数

単回投与群: 雄5匹

間歇投与群: 雄28匹

(ACNの小さい5匹を単回投与群-2に使用した.)

使用動物数

単回投与群: 雄3匹

単回投与群-2: 雄3匹

間歇投与群: 雄20匹

繁殖生産者及び所在地:

日本チャールス・リバー株式会社  
〒529-1633 滋賀県蒲生郡日野町下駒月  
735

動物選択の理由:

毒性試験に汎用される種, 系統であるため.

#### 7.5 飼育条件

飼育室: 557号室

温度: 許容範囲 19~25°C

湿度: 許容範囲 30~70%

換気回数: 15回/時間

照明:

1日12時間

(07:00~19:00点灯の人工照明)

飼育ケージ(平床飼育)

材質: ステンレス

大きさ:

300 mm (D) × 170 mm (W) × 180 mm (H)

収容数: 1匹/ケージ

飼料：

固形飼料（CRF-1，オリエンタル酵母工業株式会社）を自由に与えた。ただし，剖検前日（17：00～19：00より）は絶食とした。使用したロットについてオリエンタル酵母工業株式会社より分析結果を入手し，株式会社新日本科学 安全性研究所の基準値の範囲内であることを確認した。

飲水：

水道法水質基準に適合した水を自動給水装置を用いて自由に摂取させた。社団法人鹿児島県薬剤師会試験センターで年4回実施する検査の結果を入手し，株式会社新日本科学 安全性研究所の基準値の範囲内であることを確認した。

環境エンリッチメント：

おもちゃを常時供与した。

床敷：

パルマス μ（株式会社 天然素材探索研究所）を用いた。

清掃及び消毒：

床を毎日清掃及び消毒した。

ケージ及び床敷は週1回，給餌器及び架台は4週に1回以上，オートクレーブ滅菌処理（121℃，30分間）済みのものと交換した。

落下細菌検査：

株式会社新日本科学 安全性研究所で年4回実施する落下細菌検査の結果を入手し，株式会社新日本科学 安全性研究所の基準値の範囲内であることを確

認した。

## 7.6 動物の識別法

個体：

検疫馴化期間中は色素塗布法（ハイマッキー，ゼブラ株式会社）でACN（Acclimation Number）により識別した。群分け以降は耳パンチ法で動物番号により識別した。

ケージ：

検疫馴化期間中は試験番号，ACN，性別及びバーコードを表示したケージカードを使用した。群分け以降は試験番号，群，投与量，性別，動物番号及びバーコードを表示したカラーケージカードを使用した。

## 7.7 検疫馴化

動物は検疫馴化開始日に単回投与群（雄5匹）及び間歇投与群（雄28匹）に無作為に振り分け，間歇投与群からACNの小さい5匹を単回投与群-2に振り分けた。その後7日間の検疫馴化を行い，さらに単回投与群-2は5日間，間歇投与群は13日間馴化を行った。検疫馴化期間中の観察及び検査の頻度並びに方法の詳細については，「19. 観察及び検査項目」を参照する。検疫馴化期間中に被験物質の評価に適さないと判断した動物はいなかった。

## 7.8 動物の群分け

検疫馴化終了日に群間で体重に偏りが生じないように，体重の層別無作為化（安全性試験システム MiTOX，三井造船システム技研株式会社）によって群分けした。

群分け時の余剰動物については，初回投与の翌日に炭酸ガス吸入法で安楽死させた。

試験群構成

単回投与群

群	被験物質	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	投与液濃度 (w/v%)	動物数 (動物番号)
					雄
1	ジオクチルスルホコハク酸 Na	20	4	0.5	1 (101)
2	ジオクチルスルホコハク酸 Na	50	4	1.25	1 (102)
3	ジオクチルスルホコハク酸 Na	100	4	2.5	1 (103)

単回投与群-2

群	被験物質	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	投与液濃度 (w/v%)	動物数 (動物番号)
					雄
4	ジオクチルスルホコハク酸 Na	0.1	4	0.0025	1 (104)
5	ジオクチルスルホコハク酸 Na	1	4	0.025	1 (105)
6	ジオクチルスルホコハク酸 Na	10	4	0.25	1 (106)

間歇投与群：対照群 1 群，被験物質群 3 群

群	被験物質及び 対照物質	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	投与液濃度 (w/v%)	動物数 (動物番号)
					雄
7	生理食塩液	-	4	-	5 (1~5)
8	ジオクチルスルホコハク酸 Na	1	4	0.025	5 (6~10)
9	ジオクチルスルホコハク酸 Na	5	4	0.125	5 (11~15)
10	ジオクチルスルホコハク酸 Na	10	4	0.25	5 (16~20)

投与量設定の根拠

ラットの静脈内投与における最大耐量を予備的に決定するために、マウスの LD<sub>50</sub> (60 mg/kg) 付近である 50 mg/kg を中用量に設定し、高用量と低用量にそれぞれ 100 mg/kg と 20 mg/kg を設定した。

20 mg/kg の単回投与によって、投与部位の黒色化が投与日から確認され、複数回の投与には適さない用量であると考えられた。より低用量での影響を確認するために、10

mg/kg を設定し、公比 10 で減じて中間及び低用量を 1, 0.1 mg/kg に設定した。

観察及び検査項目

7.8.1 一般状態

例数：全例

観察頻度

検疫馴化期間中：毎日 1 回

投与期間中

投与日：3 回 (投与前，投与後約 1 時間，投与後約 4 時間)

非投与日：

剖検日：1回

観察方法：

生死の確認とあわせて一般状態観察を行った。

測定方法： 毎日1回

給餌量を電子天秤（GX-4000，株式会社エー・アンド・デイ）で測定し，その翌日に残余量を測定して1日あたりの摂餌量を算出した。

#### 7.8.2 体重

例数： 全例

測定時期

検疫馴化期間中：

検疫馴化開始日，検疫終了日及び馴化終了日に1回

投与期間中

単回投与群：

投与後0，3，6日目

間歇投与群：

投与0，7，14，21，27日に1回  
(投与日は投与前)

剖検日：

1回(剖検時の麻酔量算出のため)

測定方法：

電子天秤（GX-4000，株式会社エー・アンド・デイ）で測定した。測定時ごとの体重の増加量も求めた。

#### 7.8.4 血液学的検査

例数： 全例

検査時期： 剖検時

採血量： 約2.5 mL

採血方法：

剖検のための麻酔下で後大静脈腹部から採血した。ADVIA120を用いる測定項目用に全血約1 mL採取し，EDTA-2Kで抗凝固処理を行った全血を使用した。CA-7000を用いる測定項目には，3.8 w/v%クエン酸ナトリウム溶液を150  $\mu$ L添加した注射筒を用いて約1.5 mL採血し，遠心分離（室温，1710 $\times$ g，3000 rpm，10分間，コンパクト高速冷却遠心機 6930，製造元：株式会社久保田製作所）して得られた血漿を使用した。

血液塗抹標本：

ライト染色を施した血液塗抹標本を作製した。検査を実施しないかったため試験終了までに廃棄した。

#### 7.8.3 摂餌量

例数： 全例

測定時期

検疫馴化期間中：2日目に1回

投与期間中

単回投与群：投与後2，5日目

間歇投与群：

投与0，7，14，21，26日目に1回(午後)

検査項目及び方法：

次の表に示す。

検査項目	単位	測定方法	機種
赤血球	10 <sup>6</sup> /μL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120 <sup>a)</sup>
白血球	10 <sup>3</sup> /μL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
ヘマトクリット	%	計算式：(平均赤血球容積×赤血球) / 10	
ヘモグロビン	g/dL	シアンメトヘモグロビン変法	
血小板	10 <sup>3</sup> /μL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
平均赤血球容積	fL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
平均赤血球ヘモグロビン量	pg	計算式：(ヘモグロビン/赤血球) ×10	
平均赤血球ヘモグロビン濃度	g/dL	計算式：[ヘモグロビン / (赤血球×平均赤血球容積)] ×1000	
網赤血球	%	RNA 染色法によるレーザーフローサイトメトリー法	
白血球分類 <sup>b)</sup>	10 <sup>3</sup> /μL, %	ペルオキシンダーゼ染色によるフローサイトメトリー法及び2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
プロトロンビン時間	s	凝固法	CA-7000 <sup>c)</sup>
活性化部分トロンボプラスチン時間	s	凝固法	CA-7000 <sup>c)</sup>

a) 総合血液学検査装置 (Siemens Healthcare Diagnostics Manufacturing Ltd.)

b) 検査項目：好酸球，好塩基球，好中球，単球，リンパ球及び大型非染色細胞

各検査項目については，絶対数及び比率を計測し，絶対数のみを評価に用いた。

c) 全自動血液凝固測定装置 (シスメックス株式会社)

7.11.5 血液生化学的検査  
 例数： 全例  
 検査時期： 剖検時  
 採血量： 約 2 mL 以上  
 採血方法： 血液学的検査のため  
 の採血後，腹大動脈から採血  
 した。得られた血液は室温で 20  
 ～60 分間静置後，遠心分離（室

温，1710×g，3000 rpm，10 分  
 間，コンパクト高速冷却遠心機  
 6930，製造元：株式会社久保田  
 製作所）して得られた血清を用  
 いた。

検査項目及び方法： 次の  
 表に示す。



検査項目	単位	測定方法	機種
アスパラギン酸トランスアミナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	JCA-BM6070 <sup>a)</sup>
アラニントランスアミナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
アルカリフォスファターゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
クレアチンキナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
総ビリルビン	mg/dL	バナジン酸酸化法	
総蛋白	g/dL	ビウレット法	-
アルブミン	g/dL	計算式： 総蛋白×アルブミン比率／100	
グロブリン	g/dL	計算式：総蛋白-アルブミン	
総コレステロール	mg/dL	COD・HMMPS 法	JCA-BM6070 <sup>a)</sup>
トリグリセリド	mg/dL	GPO・HMMPS 法, グリセリン消去法	
ブドウ糖	mg/dL	ヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法	
尿素窒素	mg/dL	ウレアーゼ・GIDH 法	
クレアチニン	mg/dL	クレアチニナーゼ・HMMPS 法	
無機リン	mg/dL	PNP・XDH 法	
カルシウム	mg/dL	MXB 法	
ナトリウム	mEq/L	電極法	
カリウム	mEq/L	電極法	
塩素	mEq/L	電極法	
蛋白分画 <sup>b)</sup>	%	電気泳動法	AES320 <sup>c)</sup>

a) 自動分析装置 (日本電子株式会社)

b) 検査項目：アルブミン比率,  $\alpha_1$ -グロブリン比率,  $\alpha_2$ -グロブリン比率,  $\beta$ -グロブリン比率,  $\gamma$ -グロブリン比率, A/G 比

c) 自動電気泳動分析装置 (ベックマン・コールター株式会社)

死亡例：

7.11.6 病理学的検査

発見後速やかに実施した。

7.11.6.1 剖検

生存例

例数： 全例

単回投与群：

投与後 7 日目

検査時期

間歇投与群：

#### 4 回目投与 7 日後

検査方法

死亡例：

体重を測定後，外表，内部器官及び組織を肉眼的に観察した。

生存例：

体重を測定後，ペントバルビタールナトリウム（東京化成工業株式会社）水溶液（6.48 mg/mL, 5 mL/kg）の腹腔内投与により麻酔を行い，検査のための血液を採取した後，放血安楽死させ，外表，内部器官及び組織を肉眼的に観察した。

7.11.6.2 病理組織学的検査  
検査器官：

肝臓，腎臓（左右），心臓，肺（左右），脾臓，脳（大脳，小脳，橋，延髄），投与部位（尾）

固定

例数：間歇投与群全例

方法：10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

標本作製

例数：間歇投与群全例

方法：パラフィン包埋及び薄切を行い，HE染色を施した。

検査

例数：間歇投与群全例

方法：病理組織学的に検査した。

#### 7.12 統計学的手法

統計学的検定は実施しなかった。

8. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったことはなかった。

#### 9. 結果

##### 9.1 一般状態

100 mg/kg の単回投与では，投与直後に動物が死亡した。

50 mg/kg の単回投与では，投与後 4 時間から尾の先端部の黒色化が認められ，投与翌日にみられた尾の腫脹と合わせ，観察期間を通じて確認された。また，投与後 4 日目からは尾の痂皮もみられた。

20 mg/kg の単回投与では，投与後 4 時間から尾の先端部の黒色化が認められ，投与翌日にみられた尾の腫脹と合わせ，観察期間を通じて確認された。

0.1, 1, 10 mg/kg の単回投与では，被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

0.1, 1, 10 mg/kg の単回投与の投与後 1 時間及び 50 mg/kg の単回投与の投与後 1 及び 4 時間に尿色の異常（赤色）がみられたが，媒体で用いた注射用水の溶血によるものと考えられ，意義のない変化であると考えられた。

## 9.2 体重

いずれの群においても，単回投与後に異常な体重変化はみられなかった。

## 9.3 摂餌量

いずれの群においても，異常な摂餌量の変化はみられなかった。

## 9.4 血液学的検査

実施済

## 9.5 血液生化学的検査

実施済

## 9.6 剖検

実施済

## 9.7 病理組織学的検査

実施済

## 10. 考察

ジオクチルスルホコハク酸ナトリウムを 0.1, 1, 10, 20, 50 及び 100 mg/kg の用量（4 mL/kg, 1 mL/min）で，各用量 1

匹の雄性 Cr1: CD(SD)ラットに単回投与し，毒性変化を確認した。その結果より間歇投与の用量を設定し，各群 5 匹の雄性 Cr1: CD(SD)ラットに週 1 回 4 週間間歇静脈内投与したときの毒性変化を予備的に調べる。

100 mg/kg の投与では投与直後に動物が死亡した。

20 及び 50 mg/kg の単回投与では，投与日から尾の尖端部の黒色化がみられ，投与翌日以降は尾の主張も合わせて確認された。これらの群では体重，摂餌量に明らかな変化はみられなかった。

0.1, 1, 10 mg/kg の単回投与では，いずれの群にも異常な変化はみられなかった。

## 11. 試験関係者

試験責任者：

岡谷 秀明

検疫実施者：

岡谷 秀明

被験物質取扱い責任者：

前田 英則

動物実験担当責任者：

中路 希望

臨床検査責任者：

蓑毛 博文

剖検責任者：

藤島 純子

病理標本作製責任者：

鳥越 徳雄

病理検査責任者：

中村 菊保

(病理研究部 東京病理センター)

12. 記録，資料及び標本の保存

試験施設で発生する記録，資料及び標本は，株式会社新日本科学 安全性研究所（住所：〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地）の以下の保存場所に最終報告書作成後 10 年間保存する。

株式会社新日本科学 安全性研究所 データ資料室

試験計画書

被験物質及び対照物質に関する記録，資料

試験系に関する記録，資料

飼育条件に関する記録，資料

検疫馴化記録

投与記録

一般状態観察記録

体重測定記録

摂餌量測定記録

血液学的検査記録

血液生化学的検査記録

剖検記録

病理組織学的検査記録

最終報告書草案

最終報告書

その他，試験に関する資料

株式会社新日本科学 安全性研究所 器官保管室

ホルマリン固定標本（真空パック）

パラフィン包埋標本

組織標本

4) 発表論文：Haruki Eguchi, Masanari Umemura, Reiko Kurotani, Hidenobu Fukumura, Itaru Sato, Jeong-Hwan Kim, Yujiro Hoshino, Jin Lee, Naoyuki Amemiya, Motohiko Sato, Kunio Hirata, David J. Singh, Takatsugu Masuda, Masahiro Yamamoto, Tsutomu Urano, Keiichiro Yoshida, Katsumi Tanigaki, Masaki Yamamoto, Mamoru Sato, Seiichi Inoue, Ichio Aoki and Yoshihiro Ishikawa, "A magnetic anti-cancer compound for magnet-guided delivery and magnetic resonance imaging", *Scientific Reports, in press*