

II. 分担研究報告

B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発

所属 熊本大学大学院生命科学研究部・血液内科学分野

研究代表者 満屋 裕明

研究協力者 天野 将之

研究協力者 鎌田 伸好

研究要旨：B型肝炎ウイルス（HBV）による慢性B型肝炎の治療法の本邦における確立は急務である。本研究では現在、日本と世界で広く用いられている核酸系逆転写酵素（RT）阻害剤である entecavir (ETV) 等と同等あるいは更に強力で、かつ耐性プロフィールが ETV 等とは異なり、耐性発現の出現を許さない新規の薬剤をデザイン・合成・同定し、臨床開発へと進めることを目的とする。本研究ではこれ迄に強力な抗 HIV 活性を有し、現在臨床試験段階にある抗 HIV 逆転写酵素阻害剤である EFdA の構造を改変した新規の RT 阻害剤：CAdA および CdG を同定、これらは HBV に対して ETV と同等の活性（IC₅₀: 0.4 nM）を発揮するとともに HIV に対しても IC₅₀: 0.4 nM と強力な活性を維持していた。さらにこれらの化合物は ETV 耐性 HBV に対しても強力な抗 HBV 活性を示した。今後はこれらの薬剤を起点としてハイスループットな薬剤評価系などを用いて最適化（optimization）を進め、要に応じて特許申請等を行いながら、前臨床、早期臨床試験を視野に入れたプロジェクトとして進めて、実用化に繋ぐ。

A. 研究目的

本研究では抗 HBV 活性を有する新規化合物のデザイン・合成を目標に、抗 HIV 活性を有する逆転写酵素阻害剤の構造を起点とした最適化（optimization）に加え、結晶解析学的手法などを駆使した HBV の逆転写酵素の活性部位の微細構造の解明研究も進める。

昨年度までに報告した通り、満屋研究グループは未発表誘導体を始めとして 100~150 個のヌクレオシド誘導体の抗 HBV 活性および抗 HIV 活性の評価を進めており、本年

度までに、すべての薬剤の抗 HBV 活性および抗 HIV 活性の評価を行う。

研究代表者（満屋）は現在までに 3 種類の HIV の逆転写酵素（RT）阻害剤の臨床応用に成功しており、HBV の RT 阻害剤の初期開発の経験も有することから実薬の開発に成功する可能性は高いと期待される。また第二世代のプロテアーゼ阻害剤で HIV 感染症/AIDS のファーストライン治療薬として世界中で汎用されている darunavir の開発にも成功しており、本プロジェクトによって RT 阻害剤とは異なった作用機序を有する

候補薬の同定・開発のための研究も継続している。さらにリード化合物が同定されれば、HBV ウイルス変異株をヒト肝細胞キメラマウスに感染させた肝炎モデルを用いて、HBV 遺伝子型や各種変異体における新規抗ウイルス薬の評価を行い、劇症肝炎や肝線維、肝発癌などの病態に与える影響についても検討を重ねる。このようなマウスを用いた薬剤耐性ウイルスの評価系、およびマウスを用いた詳細な薬物毒性に対する評価系は既に確立されており、随時評価可能な段階にある。

B. 研究方法

1) 検討中の化合物の抗HIV-1活性評価：抗HIV-1活性の評価には実験室内野生株であるHIV-1_{LAI}株もしくはHIV-1_{NL4-3}株、およびヒトT細胞由来MT2細胞もしくはMT4細胞を用いたMTTアッセイ法を用いた。また各化合物の細胞毒性は、MT2/MT4細胞及びヒト肝癌由来の細胞株であるHuh-7細胞、HepG2細胞を用いたMTTアッセイにより評価した。

2) 検討中の化合物の抗HBV活性評価：抗HBV活性の評価にはHBVを持続的に産生するHepG2 2.2.15.7細胞およびHepG2 2.2.15細胞を用いた。4 x 10³個ずつ96穴プレートに播き、day 3で化合物を含む液体培地と上清を交換し、day 7で各wellの培養上清をそれぞれ回収し、viral DNAをQIAGEN社の抽出キット及びキアキューブにて抽出した後、real time PCR法（Primerdesign社のqPCR detection kitおよびABi社の7500 Fastを使用）にて細胞内および上清中のDNA量の定量を行い、各化合物の抗HBV活性を評価した。

3) 薬剤の毒性評価（細胞内ミトコンドリア障害）：逆転写酵素阻害剤の一部はミトコン

ドリア毒性を有することが知られており、real time PCR法を用いた細胞内ミトコンドリアDNA量を定量することにより薬剤によるミトコンドリア障害の評価を行った。

（倫理面への配慮）

開発中の化合物の臨床試験導入に際して、まず動物実験などでその安全性を十分に確認する。さらに医学部・大学内の該当するIRBで倫理面での適合性について許可を申請、認可された後で試験を開始する。他方で臨床応用に必要な検討事項についても検討して、同時に大手製薬企業へのライセンス化を図る。

C. 研究結果

まず我々は抗HIV活性と抗HBV活性の両方を高感度で検出するアッセイ系を確立、この系を用いて既存の抗HIV/抗HBV逆転写酵素阻害剤の活性を検討した。その結果、lamivudine (3TC)、tenofovir (TDF)など両方に適応のある薬剤は当然HIVとHBVの両方で活性を認めたが、一方でB型慢性肝炎にのみ適応のあるETVでもわずかながらHIVに関して活性を有することを明らかにした。

次に我々が有する、あるいは新規に合成した100以上の薬剤の活性を測定した。その結果、8化合物がHIVに対して、13種類がHBVに対して活性を有していたのに加えて、29種類の薬剤がHIVとHBVの両方に活性を持つことが分かった。その中で、我々が同定して初期開発に成功、米国メルク社に導出して臨床開発途上にある、次世代型抗HIV逆転写酵素阻害剤4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA)

(図1)については非常に強力な抗HIV活

性 (IC₅₀: 0.3 nM) に対し、その抗 HBV 活性は軽微 (IC₅₀: 200 nM) であることが分かった (表 1)。

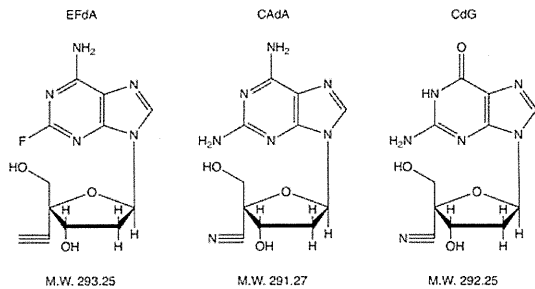


図1. EFdA と新規抗 HBV 薬の構造

以上の結果から、HIV の RT の活性部位の構造は HBV の RT の構造とかなり異なることが推察されたが、その一方で、非常に優秀な HIV-RT に対する阻害剤である EFdA の構造を改変し、そのプロファイルを変えることにより、その抗 HBV 活性を増強させることが可能ではないか、という着想を得た。そしてこの仮定の元に、我々は EFdA と共通の基本骨格を有しながらその 4' 位の側鎖などを置換した各種の類似体について、より詳細な検討を行い、EFdA の類似体であるが、その 4' 位の構造が異なる (シアノ基) 化合物 : CAdA (4'-cyano-2-amino-2'-deoxyadenosine)、および CdG (4'-cyano-2'-deoxyguanosine) を同定した。これらの化合物は親化合物である EFdA と同等の抗 HIV 活性 (IC₅₀: 0.4 nM) を維持しながら、その抗 HBV 活性は極めて強力になり、IC₅₀ 値で ETV と同等 (IC₅₀: 0.4 nM) の活性を有することが明らかとなった (表 1)。

さらに分担研究者である田中靖人教授のグループとの研究により、CAdA と CdG は ETV 耐性 HBV (HBV_{ETV-R}^{L180M/S202G/M204V})

表 1. 逆転写酵素阻害剤の抗 HIV/HBV 活性

Drug	IC ₅₀ (μM)	
	Anti HIV	Anti HBV
ETV	1	0.0007
3TC	0.3	0.02
FTC	0.2	0.02
TDF	0.5	0.04
ADV	0.2	0.2
LdT	>100	0.007
EFdA	0.0003	0.2
CAdA	0.0004	0.00044
CdG	0.0004	0.00037

に対しても強力な抗 HBV 活性を発揮することが明らかとなった。また感染ヒト肝細胞移植キメラマウスへの 2 週間の経口投与では、ETV は ETV 耐性 HBV に対して血清ウイルスの抑制を示さなかったが CAdA と CdG はウイルス血症を有意に減少させた。さらに 2 週間の CAdA/CdG 投与は明らかな体重減少や血清ヒトアルブミン値の減少を起こさなかった。

HIV 感染症に AZT をはじめとする逆転写酵素阻害剤が使用されるようになった後、ddC、d4T など一部の NRTI でミトコンドリア障害に伴う乳酸アシドーシス、肝機能障害、ミオパチーなどきわめて重篤な副作用をきたす事が報告され、やがてそれらはこれらの薬剤がミトコンドリア DNA 合成に重要な DNA polymerase γ に基質として認識され取り込まれるためと判明した。本プロジェクトでは良好な活性を持つ候補薬に関してはすべて *in vitro* での細胞毒性の評価に加えて real-time PCR 法を用いたミトコンドリア障害の評価を平行して行った。その結果、ミトコンドリア障害を来すとされている ddC では 100 μM まで細胞毒性は認められないにも関わらず、1 μM の濃度でミトコンドリア DNA の合成阻害が認められたのに対し、CAdA や CdG では細胞毒性 (CC₅₀ 値) とミトコンドリア阻害能に明らかな解離を

認めず、ミトコンドリア特異的な毒性を有さないことが示唆された。

HIV-RT の結晶構造を元にした HIV-RT および HBV-RT と各種 RT 阻害剤の結合モデルの作成を行い (図 2)、より詳細な結合・阻害様式の解明を現在進めている。

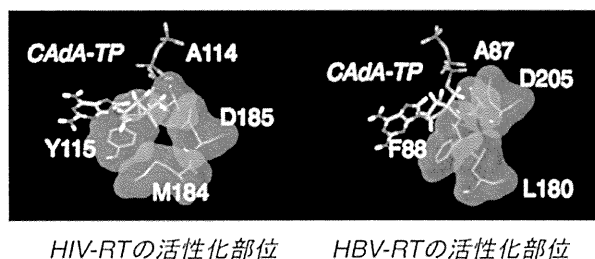


図2.HIV-RT, HBV-RT と CAAdA との結合

D. 考察

本年度までに当研究グループでは未発表誘導体を始めとした 100 個以上のヌクレオシド誘導体の HIV および HBV に対する抗ウイルス活性の評価を完了、HIV-RT に対して阻害能を有するもの、HBV-RT に対して阻害能を有するものに加えて、その両者を抑制する一連の化合物の同定に成功した。それらの中で我々は抗 HIV 薬として非常に強力な活性と優れた薬物動態を有する EFdA の類似体に着目、その構造を改変する事によりその優れた特性を生かし、かつ EFdA では軽微であった抗 HBV 活性を大幅に改善させた薬剤：CAAdA および CdG の同定に成功した。これらについては、既に分担研究者である田中靖人教授のグループで薬剤耐性 HBV 感染マウスモデルを用いた評価が終了、さらに RT 阻害剤の一部で見られるミトコンドリア障害に対する *in vitro* での評価も平行して行った。今後、本研究において得られるであろう HBV-RT の微細立体構造の知見も基にしながら、これ

ら hit 化合物の構造最適化・合成展開を図り、更に強力な抗 HBV 感染症治療薬の開発に推進していく。

E. 結論

本研究代表者 (満屋) は RT 阻害剤を含む各種の抗 HIV 薬開発をそのライフワークとして続けており、今回、そこで得られた経験を応用し、極めて短期間で非常に強力な活性を有する抗 HBV 逆転写酵素阻害剤の開発に成功したことは本プロジェクトの最終目標 (B 型肝炎に対する治療薬の開発) に向けた大きな成果であるといえる。

C型肝炎ウイルス (HCV) による肝炎に関しては近年、その治療法に長足の進歩が見られている。しかし HBV に対する新規の治療法は遅々として進まず、HBV を体内から除去するという意味での「治癒」をもたらす治療法は現段階では困難とされている。そのような中で、上述の通り、本プロジェクトではこれ迄より強力な HBV の耐性獲得に抵抗する新規の治療薬の開発に向けて大きく前進する成果が得られた。これらの研究がさらに進展することにより、現在日本国内に 150 万人存在すると推定される HBV 保有者に大きく裨益すると思われる。殊にそうした保有者の 5%が慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌を発症するとされるので、QOL のみならず救命も可能となり、国民衛生に大きく資する事となると期待される。

さらに、本プロジェクトでは新規薬剤の開発という最終目標を達成するための研究手段として、HBV 逆転写酵素の活性部位の微細構造の解明、キメラマウスを用いた B 型肝炎モデルの作製と HBV 変異株に対する薬剤活性評価系、*in vitro* およびマウスなど

の動物モデルを用いた包括的な薬剤の毒性、動態評価のシステムの構築も随時進んでおり、新規治療薬の開発のタイムスケールの大幅短縮が期待され、将来のHBVの新規の治療薬開発にも大きく貢献すると強く期待される。

F. 研究発表

論文発表

1. Takamatsu, Y., Tanaka, Y., Kohgo, S., Murakami, S., Singh, K., Das, D., Venzon, DJ., Amano, M., Kuwata, N., Aoki, M., Delino, NS., Hayashi, S., Takahashi, S., Haraguchi, K., Sarafianos, SG, Maeda, K, and Mitsuya, H. 4'-Modified Nucleoside Analogs: Potent Inhibitors Active against Entecavir-resistant HBV. [*HEPATOLOGY, under revision*].

学会発表 (国際学会のみ)

1. Maeda, K., Takamatsu, Y., Kohgo, S., Delino, NS., Chang, SB., Haraguchi, K., and Mitsuya, H. 4'-Ethyne-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) has an extremely high genetic barrier, persistently exerting highly potent activity against a variety of HIV-1 isolates including EFdA-selected HIV-1 variants. The annual Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). Feb 23-26, 2015. Seattle, WA.
2. Takamatsu, Y., Tanaka, Y., Amano, M., Kuwata, N., Aoki, M., Delino, NS., Murakami, S., Hayashi, S., Kohgo, S., Haraguchi, K., Sarafianos, SG., Maeda, K., and Mitsuya, H. 4'- Modified Nucleoside

Analogs: Potent Inhibitors Active against Entecavir-Resistant HBV and Their Structure-Activity Relationship. The 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy (ICAAC). Abstract H996. Sept. 5-9, 2014. Washington D.C.

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

名称「抗ウイルス活性を示すヌクレオシド誘導体」として平成27年5月出願予定

2. 実用新案登録

該当なし

PK/PDの解析と毒性評価に関する研究

研究分担者 小田切 優樹 崇城大学薬学部・教授

研究要旨

本年度は、定量用質量分析計 Xevo G2 TOF システムを用い、B型肝炎治療薬として新規に合成された 4'-CN-2'-deoxyinosine (SK14-061a)、4'-CN-2'-deoxyguanosine (SK13-140)、4'-ethynyl-2'-deoxyadenosine (SK14-013) に関する検討を行った。その結果、上記 3 化合物の水溶液中での検出条件の設定を行うことに成功し、その検出限界は、SK14-061a: 10 ng/mL, SK13-140: 10 ng/mL, SK14-013: 100 pg/mL であった。次に、in vivo 実験 (体内動態評価) に向けて、除タンパク条件の検討を行った。まず、SK14-061a を用い、一般的な除タンパク法である有機溶媒 (アセトニトリル及びメタノール) による除タンパクを試みたが、ピークの消失やブロード化が起こり、有機溶媒による除タンパクは不適であると判断した。次に固相カラム Oasis MCX/WCX を用いて検討を行った。その結果、Oasis WCX は SK14-061a の保持が全くできなかったが、Oasis MCX では、脱離段階 (化合物の抽出段階) で SK14-061a の抽出が可能であったため、Oasis MCX が最適な除タンパクカラムであると判断した。また、SK14-061a のラットにおける体内動態検討を行ったところ、消失半減期は静脈内投与及び経口投与でそれぞれ 5.1 時間、3.8 時間であった。加えて、生物学的利用率を算出したところ、約 65%であった。

A. 研究目的

臨床試験に新規薬物が進むためには、前臨床試験での製剤化・薬物動態・薬理・安全性試験など数多くの試験をクリアする必要がある。中でも、新規薬物の開発段階で、実験動物において、吸収・分布・代謝・排泄を始めとした薬物動態特性を明らかにすることは、臨床試験における投与設計やヒトにおける安全性の予測につながるため必要不可欠な検討項目の一つである。本研究事業では、新規B型肝炎治療薬物の体内動態解析は定量用質量分

析計Xevo G2 TOFシステム (Waters) により前臨床試験段階、臨床試験段階ともに行っていく予定である。質量分析計を用いた体内動態実験の過程において、新規化合物各々に合った適切な測定条件を構築する必要がある。

平成26年度は、これまでにB型肝炎治療薬として新規に合成された3つの化合物 [4'-CN-2'-deoxyinosine (SK14-061a)、4'-CN-2'-deoxyguanosine (SK13-140)、4'-ethynyl-2'-deoxyadenosine (SK14-013)] (Fig. 1) のXevo G2 TOFシステムにおける

検出条件の設定と小動物（ラット）における体内動態実験を行った。

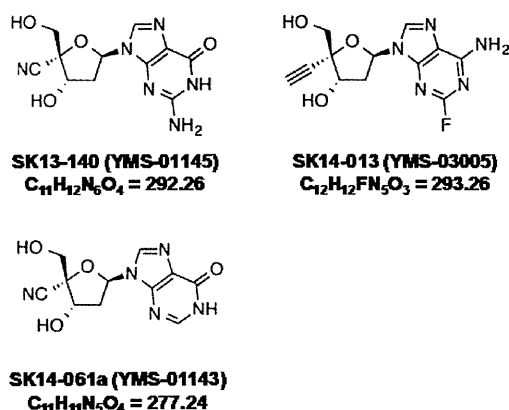


Figure 1

Chemical structure of

4'-CN-2'-deoxyinosine (SK14-061a)、

4'-CN-2'-deoxyguanosine (SK13-140)、

4'-ethynyl-2'-deoxyadenosine (SK14-013)

B. 研究方法

1. 化合物の分析

SK14-061a、SK13-140、SK14-013の検出は定量用質量分析計Xevo G2 TOFシステム (Waters) を用い行った。

2. 倫理面への配慮

動物実験は、科学研究の一般原則に従い、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、崇城大学実験動物倫理委員会のもとに、実験を施行した。

3. 動物

SDラット (オス、7週齢) は九動より購入し、1週間の予備飼育後に8週齢で実験に使用した。

4. 体内動態

SK14-061aを投与し (1 mg/kg)、規定時間 (尾静脈内投与 : 3分、1時間、3時間、6時間、9時間 ; 経口投与 : 15分、45分、1.5時間、3時間、6時間、9時間) に頸静脈から採血した。直ちに遠心処理を行い、血漿を得た。

C. 研究結果

1. 測定条件の探索

まず初めに、定量用質量分析計Xevo G2 TOFシステムを用い、水溶液中でのSK14-061a、SK13-140、SK14-013の検出条件の設定を行った。その結果、各々の検出条件は以下ようになった。

★ SK14-061a

【LC条件】

- ・ サンプル温度 ; 5℃
- ・ 注入量 ; 5 uL
- ・ 洗浄溶媒 ; 10%メタノール
- ・ カラム ; ACQUITY UPLC BEH Phenyl (1.7 um, 2.1 x 100 mm)
- ・ 移動相A ; 0.1% ギ酸水溶液
- ・ 移動相B ; メタノール
- ・ グラジエント

Time (min)	A (%)	B (%)	Curve
initial	95	5	—
1	95	5	6
3	5	95	6
5	5	95	6
5.1	95	5	6
9	95	5	

※Curve 6 = リニアグラジエント

- ・ Run Time ; 9分

- ・流速； 0.4 uL/min
- ・カラム温度； 40°C

【MS条件】

- ・イオン化モード； ES⁺
- ・測定モード； Sensitivity Mode
- ・キャピラリー電圧； 3 kV
- ・コーン電圧； 10 V
- ・脱溶媒ガス； 400 L/hr (500°C)
- ・コーンガス； 50 L/hr
- ・イオン源ヒーター； 120°C
- ・測定範囲； m/z 100 – 1,000
- ・スキャン時間； 0.3 sec
- ・コリジョンエネルギー； 2 V
- ・Lock Mass； Leucine Enkephalin
[M-H]⁺ 556.2771

★ SK13-140

【LC条件】

- ・サンプル温度； 5°C
- ・注入量； 5 uL
- ・洗浄溶媒； 10%メタノール
- ・カラム； ACQUITY UPLC BEH Phenyl
(1.7 um, 2.1 x 100 mm)
- ・移動相A； 0.1% ギ酸水溶液
- ・移動相B； メタノール
- ・グラジエント

Time (min)	A (%)	B (%)	Curve
initial	95	5	—
1	95	5	6
3	5	95	6
5	5	95	6
5.1	95	5	6
9	95	5	

※Curve 6 = リニアグラジエント

- ・Run Time； 9分
- ・流速； 0.4 uL/min
- ・カラム温度； 40°C

【MS条件】

- ・イオン化モード； ES⁺
- ・測定モード； Sensitivity Mode
- ・キャピラリー電圧； 3 kV
- ・コーン電圧； 10 V
- ・脱溶媒ガス； 400 L/hr (500°C)
- ・コーンガス； 50 L/hr
- ・イオン源ヒーター； 120°C
- ・測定範囲； m/z 100 – 1,000
- ・スキャン時間； 0.3 sec
- ・コリジョンエネルギー； 2 V
- ・Lock Mass； Leucine Enkephalin
[M-H]⁺ 556.2771

★ SK14-013

【LC条件】

- ・サンプル温度； 5°C
- ・注入量； 5 uL
- ・洗浄溶媒； 10%メタノール
- ・カラム； ACQUITY UPLC BEH Phenyl
(1.7 um, 2.1 x 100 mm)
- ・移動相A； 0.1% ギ酸水溶液
- ・移動相B； メタノール
- ・グラジエント

Time (min)	A (%)	B (%)	Curve
initial	95	5	—
1	95	5	6
3	5	95	6
5	5	95	6
5.1	95	5	6

9	95	5	
---	----	---	--

※Curve 6 = リニアグラジエント

- Run Time ; 9分
- 流速 ; 0.4 uL/min
- カラム温度 ; 40°C

【MS条件】

- イオン化モード ; ES⁺
- 測定モード ; Sensitivity Mode
- キャピラリー電圧 ; 3 kV
- コーン電圧 ; 20 V
- 脱溶媒ガス ; 400 L/hr (500°C)
- コーンガス ; 50 L/hr
- イオン源ヒーター ; 120°C
- 測定範囲 ; m/z 100 – 1,000
- スキャン時間 ; 0.3 sec
- コリジョンエネルギー ; 2 V
- Lock Mass ; Leucine Enkephalin
[M-H]⁺ 556.2771

上記の条件で測定した場合、水溶液中での各々の検出限界は、SK14-061a: 10 ng/mL, SK13-140: 10 ng/mL, SK14-013: 100 pg/mL であった。

2. 除タンパク条件の探索

定量用質量分析計を用いて体内動態特性の評価を行う際には、除タンパクの作業が必須項目である。そこで次に、in vivo 実験に向け、ヒト血清中にSK14-061aを混合し、除タンパク条件の検討を行った。まず、一般的な除タンパク法である有機溶媒 (アセトニトリル及びメタノール) による除タンパクを試みたが、ピークの分裂やブロード化が起こり、有機溶媒に

よる除タンパクは不適であると判断した。(Fig. 2)

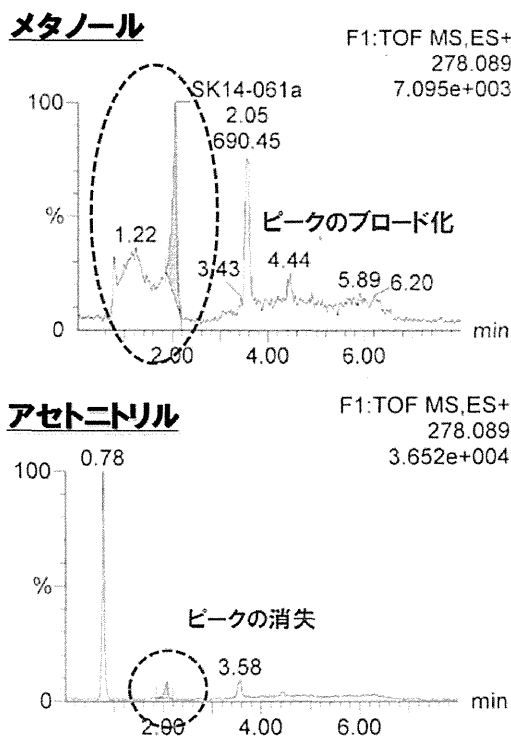


Figure 2
Representative chromatogram of SK14-061a after protein extraction process

そこで次に、固相カラムOasis MCX/WCX (Waters製) を用いて除タンパクを試みた。その結果、Oasis WCXはSK14-061aの保持が全くできず、洗浄段階で化合物が抽出されたが、Oasis MCXでは、脱離段階 (化合物の抽出段階) でSK14-061aが抽出された。この結果より、Oasis MCXが最適な除タンパクカラムであると判断した。しかしながら、Oasis MCXによりSK14-061aを抽出する際に用いるメタノールとアンモニアがピークのブロード化を引き起こし、SK14-061aの定量に大きく影響を与えた (Fig.3A)。この問題は、メタノールとアンモニアを遠心

エバポレータで完全除去（揮発処理）を行い、その後、移動相で再溶解したサンプルを測定することでシャープなピークを得ることに成功した (Fig. 3B)。

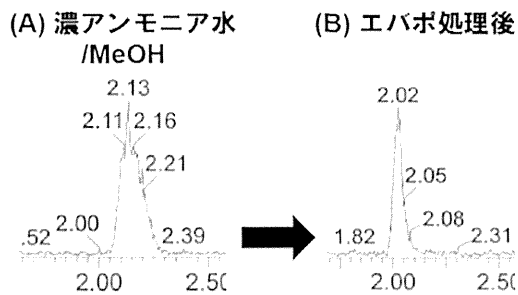


Figure 3
Representative chromatogram of SK14-061a (A) before and (B) after evaporation

以上の結果より、SK14-061aの除タンパク条件はFigure 4のように決定した。

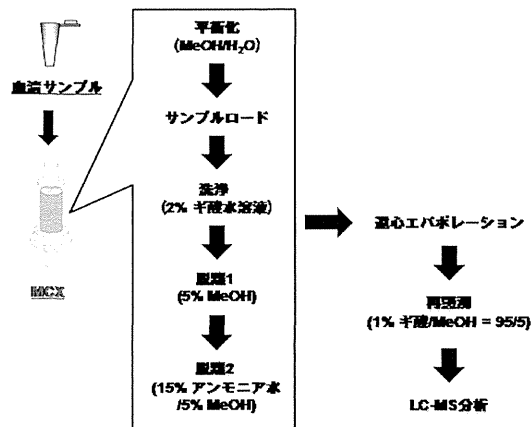


Figure 4
The protein extraction process of SK14-061a from human serum

3. SK14-061aの体内動態実験

SK14-061aを1 mg/kgでラットに静脈内投与し、投与後9時間までの血漿中濃度推

移について評価した (Fig. 5)。得られた結果より、SK-061aの各速度論パラメータを算出したところ、消失半減期は約5.1時間であった (Table 1)。

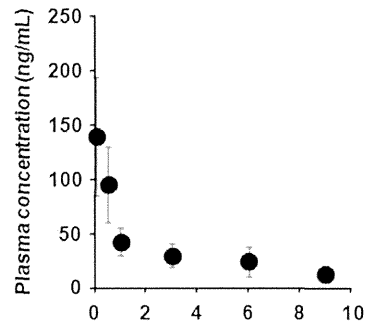


Figure 5
Time course for plasma concentration of SK14-061a in plasma after intravenous injection at a dose of 1 mg/kg in rats.

The values are mean \pm SD. (n=4)

Table 1
Pharmacokinetic parameters of SK14-061a after intravenous injection at a dose of 1 mg/kg in rats.

$t_{1/2}$ (hr)	5.1 \pm 3.3
CL_{tot} (mL/hr/kg)	3.0 \pm 0.16
Vd_{ss} (mL/kg)	14.2 \pm 5.9
AUC (ng/mL·hr)	400.3 \pm 185.5

The values are mean \pm SD. (n=4)

同様に経口投与についても検討を行ったところ、SK14-061aの消失半減期は約3.8時間であった (Fig. 6 and Table 2)。

さらに、静脈内投与及び経口投与の結果より、生物学的利用率を算出したところ、約65%であった。この値は、現行のB型肝炎治療薬であるエンテカビルと同等

の値であった。

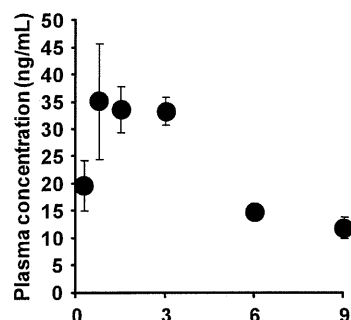


Figure 6
Time course for plasma concentration of SK14-061a in plasma after oral injection at a dose of 1 mg/kg in rats.

The values are mean \pm SD. (n=4)

Table 2
Pharmacokinetic parameters of SK14-061a after oral injection at a dose of 1 mg/kg in rats.

$t_{1/2}$	(hr)	3.8 ± 0.4
Cl_{tot}/F	(mL/hr/kg)	3.8 ± 0.3
Vd_{ss}/F	(mL/kg)	22.7 ± 0.5
AUC	(ng/mL \cdot hr)	261.7 ± 22.9

The values are mean \pm SD. (n=4)

D. 結論

今回、定量用質量分析計Xevo G2 TOFシステムにおけるSK14-061a、SK13-140、SK14-013の測定条件を設定することに成功した。さらに、SK14-061aのみではあるが、除タンパク条件を見出し、ラットにおける体内動態実験を行い、各速度論パラメータを算出した。今後は、残りのSK13-140、SK14-013の体内動態実験を行うと共に、新規の候補化合物が合成され次第、その化合物の体内動態実験を行っ

ていく予定である。

E. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 主な論文発表

1. 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) 3(1):e00092.
2. Taguchi K, Tokuno M, Yamasaki K, Kadowaki D, Seo H, **Otagiri M**. Establishment of a model of acetaminophen-induced hepatotoxicity in different weekly-aged ICR mice. *Lab Anim.* (2015) in press
3. 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) 67(2):255-63.
4. Tsukigawa K, Liao L, Nakamura H, Fang J, Greish K, **Otagiri M**, Maeda H. Synthesis and therapeutic effect of styrene-maleic

- acid copolymer-conjugated pirarubicin. *Cancer Sci.* (2015) in press
5. Tsukigawa K, Nakamura H, Fang J, **Otagiri M**, Maeda H. Effect of different chemical bonds in pegylation of zinc protoporphyrin that affects drug release, intracellular uptake, and therapeutic effect in the tumor. *Eur J Pharm Biopharm.* (2015) 89:252-70
 6. 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 Sci.* (2015) 106(2):194-200.
 7. 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) 5:561.
 8. 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) 352(2):244-57.
 9. 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) 11(11):4238-48.
 10. 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) 112:152-7.
 11. Anraku M, Hiraga A, Iohara D, Uekama K, Tomida H, **Otagiri M**, Hirayama F. Preparation and antioxidant activity of PEGylated chitosans with different particle sizes. *Int J Biol Macromol.* (2014) 70:64-9.
 12. 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) 103(7):2199-206.
 13. Taguchi K, Yamasaki K, Maesaki H,

- Tokuno M, Okazaki S, Moriuchi H, Takeshita K, **Otagiri M**, Seo H. An evaluation of novel biological activity in a crude extract from *Heme rocallis fulva* L. var. *sempervirens* M. Hotta. *Nat Prod Res.* (2014) 28(23):2211-3.
14. 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) 103(7):2184-8.
15. 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) 35(24):6553-62.
16. 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) 1840(9):2806-12.
17. 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) 11(4):1228-38.
18. 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) 9(2):e87919.
19. 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.
20. 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.

2. 主な学会発表

(国際学会)

1. Watanabe H, Tanaka R, Maeda H, Kodama A, Taguchi K, Ishima Y, **Otagiri M**, Maruyama T. Therapeutic impact of human serum albumin-thioredoxin fusion protein, long-acting anti-oxidative and anti-inflammatory modulator, against acetaminophen-induced acute hepatopathy. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
2. Taguchi K, Ujihira H, Ogaki S, Watanabe H, Takeoka S, Ikeda Y, Handa M, **Otagiri M**, Maruyama T. Pharmacokinetic study of enclosed adenosine diphosphate and outer lipid component after the administration of H12-(ADP)-liposome as a synthetic platelet substitute. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
3. Taguchi K, Nagao S, Jono H, Yamasaki K, Mizuguchi M, Maruyama T, Ando Y, **Otagiri M**. Effect of albumin on transthyretin disposition and tissue deposition in vivo. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
4. Kadowaki D, Sakaguchi S, Miyamoto Y, Muraya N, Narita Y, Sato K, Ishima Y, Chuang VTG, Maruyama T, **Otagiri M**, Hirata S. Radical scavenging activity of benzbromarone as a novel property in vitro. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
5. Maruyama T, Ogaki S, Taguchi K, Maeda H, Ishima Y, Watanabe H, **Otagiri M**. Carbon monoxide bound red blood cells protect the expression of hepatic cytochrome P450 after resuscitation from hemorrhagic shock via inactivation of Kupffer cells. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
6. Taguchi K, Sakai H, Maruyama T, **Otagiri M**. Safety and pharmacokinetic studies of hepatically-metabolized and -excreted artificial oxygen carrier, hemoglobin-vesicles, in chronic hepatic cirrhosis. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
7. Yamasaki K, Okamoto Y, Enokida T, Maeda T, Taguchi K, Seo H, **Otagiri M**. Study on protein binding of sodium phenylbutyrate. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
8. **Otagiri M**, Maruyama T.

- Pharmacokinetics of serum albumin variants. Innovation workshop on Albumin: The next generation protein therapeutics 2014/7/12 (Chicago, USA)
9. **Otagiri M**, Ishima Y, Maruyama T. Therapeutic Applications of Albumin-Thioredoxin Fusion Protein. 10th European Symposium on Biochemical Engineering Sciences and 6th International Forum on Industrial Bioprocesses Lille, 2014/9/7-10 (France, LILLE GRAND PALAIS)
 10. Nagao S, Taguchi K, Tanaka R, Sakai H, Watanabe H, **Otagiri M**, Maruyama T. Development of a nanotechnology-based carbon monoxide donor and its therapeutic impact on idiopathic pulmonary fibrosis. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 11. Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, Ishima Y, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. Albumin fusion renders thioredoxin an effective anti-oxidative and anti-inflammatory agent for preventing acute kidney injury. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 12. Maeda H, Ichimizu S, Watanabe H, Ishima Y, Suenaga A, **Otagiri M**, Maruyama T. Polythiolated- and recombinant mannosylated-albumin as a novel CD68+/CD206+ Kupffer cell-targeted mono-antioxidant for the treatment of acute and chronic hepatitis models. 19th North American ISSX Meeting/29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 13. Watanabe H, Miyamoto Y, Enoki Y, Ishima Y, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. OAT-dependent cellular accumulation of p-cresyl sulfate, a uremic toxin, causes vascular endothelial and smooth muscle cell damages by inducing oxidative stress. 19th North American ISSX Meeting/29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 14. Ogaki S, Maeda H, Taguchi K, Ishima Y, Watanabe H, **Otagiri M**, Maruyama T. 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 / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 15. Taguchi K, Chuang VTG, Yamasaki K, Kawai K, Maruyama T, Komatsu T, **Otagiri M**. The potential of a cross-linked human serum albumin dimer in diabetic rats as an augmenting agent for

antidiabetic drugs. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)

16. Maruyama T, Tanaka R, Watanabe H, Kodama A, Ishima Y, **Otagiri M**. Genetically engineered Albumin-Thioredoxin fusion protein, long-acting anti-oxidant, ameliorates acute lung injury associated with influenza virus infection. 19th North American ISSX Meeting/29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)

17. Anraku M, Iohara D, Uekama K, Hirayama F, **Otagiri M**. Antioxidant and renoprotective activity of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in nephrectomized rats. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)

(国内学会)

1. 異島 優、方 軍、前田 浩、渡邊 博志、**小田切 優樹**、丸山 徹 NO 付加型ヒト血清アルブミンの臨床応用へのアプローチ 第 14 回日本 NO 学会 学術集会 2014/5/16-17 (佐賀)

2. 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 (佐賀)

3. 榎田 泰介、山崎 啓之、岡本 侑子、田口 和明、宮本 秀一、瀬尾量、**小田切 優樹** フェニル酪酸ナトリウムのタンパク結合特性に関する基礎的検討 日本薬剤学会第 29 年会 2014/5/20-22 (大宮)

4. 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 (大宮)

5. 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 (大宮)

6. 橋本 麻衣、田口 和明、大柿 滋、渡邊 博志、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) リポ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 (大宮)

7. 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 (大宮)
8. 異島 優、井上 亜希、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 (大宮)
9. 田中 遼大、異島 優、榎木 裕紀、小田切 優樹、渡邊 博志、丸山 徹 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 (大宮)
10. 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 優、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 (大宮)
11. 成田 勇樹、坂田 美紀、異島 優、小田切 優樹、丸山 徹、門脇 大介、平田 純生 トロンボモデュリン α の抗酸化作用によるプレイオトロピック効果 第 57 回 日本腎臓学会学術総会 2014/7/4-6 (横浜)
12. 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 (横浜)
13. 今福 匡司、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チン付加 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 (横浜)
14. 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 (横浜)
15. 渡邊 博志、宮本 洋平、榎木 裕紀、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 (横浜)
16. 福永 雅樹、門脇 大介、成田 勇樹、竹澤 真吾、丸山 徹、小田切 優樹、平田 純生 In vivo 血液透析モデルラットによるバンコマイシン除去率評価の妥当性に関する検討 第 57 回 日本腎臓学会学術総会 2014/7/4-6 (横浜)

17. 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 (東京)
18. 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 (東京)
19. 山崎 啓之、平山 茜、安楽 誠、田口 和明、小田切 優樹、瀬尾 量 粉末吸入用アルブミン製剤の設計に向けた基礎的検討第 30 回日本 DDS 学会学術集会 2014/7/30-31 (東京)
20. 異島 優、方軍、前田 浩、渡邊 博志、丸山 徹、小田切 優樹 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 (東京)
21. 小田切 優樹、田口和明、丸山徹、酒井宏水、小林紘一 ヘモグロビン小胞体の体内動態解析に基づく安全性・有用性評価と DDS への応用 第 52 回日本人工臓器学会大会 2014/10/17-19 (札幌)
22. 太田英伸、李コウ、中川真智子、若松永憲、泉仁美、稲垣真澄、岡村州博、小田切 優樹、横田秀夫、柴田重信、酒井宏水、八重樫伸生妊婦高血圧症候群に対する人工赤血球を用いた治療法の開発 第 52 回日本人工臓器学会大会 2014/10/17-19 (札幌)
23. 山崎 啓之、榎田 泰介、岡本 侑子、田口 和明、宮本 秀一、瀬尾 量、小田切 優樹 フェニル酪酸ナトリウムの血清アルブミン結合特性に関する基礎的検討 第 42 回構造活性相関シンポジウム 2014/11/13-14 (熊本)
24. 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 α 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 (徳島)
25. 異島 優、井上亜希、方軍、渡邊博志、前田 浩、小田切 優樹、丸山 徹 ペ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 (徳島)
26. 春木理沙、神山育男、松田信作、河野光智、田口和明、永尾紗理、丸山 徹、小田切 優樹、小松晃之 HemoAct™の血液適合性および安全性評価 第 21 回日本血液代替物学会年次大会 2014/12/8-9 (東京)

27. 田口和明、丸山 徹、酒井宏水、**小田切 優樹** 病態モデル動物におけるヘモグロビン小胞体の体内動態と安全性評価 第 21 回日本血液代替物学会年次大会 2014/12/8-9 (東京)
28. 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) リポソ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 (東京)
29. 山田佳奈、春木理沙、田口和明、永尾紗理、丸山 徹、**小田切 優樹**、小松晃之 (ヘモグロビン-アルブミン) クラスタ”HemoAct™”の分子構造調整 第 21 回日本血液代替物学会年次大会 2014/12/8-9 (東京)
30. 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 (東京)
31. 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-チオレドキシシ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 (東京)
32. 榎田 泰介、山崎 啓之、岡本 侑子、田口 和明、宮本 秀一、丸山 徹、瀬尾 量、**小田切 優樹** フェニル酪酸ナトリウムの血清アルブミン結合に関する構造化学的考察 日本薬学会第 135 年会 2015/3/25-28 (神戸)
33. 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 (神戸)
34. 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 (神戸)
35. 河野 陽介、安楽 誠、山崎 啓之、丸山 徹、岡山 善郎、平山 文俊、**小田切 優樹** アルブミン製剤処方の基礎的検討：酸化剤としての N-アセチルメチオニンの有用性について 日本薬学会第 135 年会 2015/3/25-28 (神戸)
36. 田口 和明、山崎 啓之、安楽 誠、瀬尾 量、川井 恵一、丸山 徹、小松 晃之、**小田切 優樹** 腎疾患時における