

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

**平成 26 年度～平成 30 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」  
研究成果報告書概要**

1 学校法人名 帝京平成大学                      2 大学名 帝京平成大学

3 研究組織名 先端技術開発センター

4 プロジェクト所在地 東京都中野区中野 4-21-2

5 研究プロジェクト名 医薬品リバイバル技術による創薬イノベーション

6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
石田 功	薬学部・薬学科	教授

8 プロジェクト参加研究者数 16 名

9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
平 裕一郎	薬 学 部・ 准教授	抗腫瘍 VHH 抗体またはその融合 体発現・分泌による抗腫瘍効果	抗腫瘍組換えビフィズス菌開 発
平 郁子	薬 学 部・ 准教授	抗 Stat3-VHH-Penetratin 抗体及 び TNF $\alpha$ の発現・分泌による抗腫瘍 効果	抗腫瘍組換えビフィズス菌開 発
磯田 勝広	薬 学 部・ 准教授	C-CPE 投与によるビフィズス菌の 腫瘍局在量の増大	組換えビフィズス菌の実用化 促進
斎藤 浩美	薬 学 部・ 教授	組換えビフィズス菌からのタンパク 質分泌発現量増大	組換えビフィズス菌の実用化 促進
石田 功	薬 学 部・ 教授	血栓溶解剤、抗生物質補助薬の 開発	POC 確立と実用化
大西 敦	薬 学 部・ 准教授	血栓溶解剤の開発	POC 確立と実用化
大野 まき	薬 学 部・ 講師	抗生物質補助薬の開発	POC 確立と実用化
西川 毅	薬 学 部・ 准教授	抗 TRAILR-VHH 抗体の経口投与 による大腸がん治療	経口投与抗体治療薬の POC 確立
中村 孝博	薬 学 部・ 特別研究員	大腸がんモデル動物の作製と経口 投与抗体の薬効評価	大腸がんモデル動物の作製 と経口投与抗体の薬効評価
(共同研究機関等) 近藤 昌夫	大阪大学・薬 学部・教授	C-CPE 投与によるビフィズス菌の 腫瘍局在量の増大	C-CPE 及びその変異体遺伝 子提供
丸山 一雄	帝京大学薬 学部・教授	リポソーム製剤との併用効果	リポソーム製剤の提供と助言

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

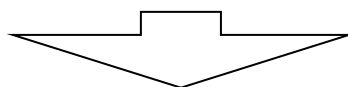
盛根 信也	沖縄県衛生 研究所・研究 員	血栓溶解剤開発	研究データ提供と研究の助 言
良原 栄策	東海大学・医 学部・非常勤 准教授	抗生物質補助薬開発	緑膿菌株の提供と助言

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
なし			

(変更の時期:平成 26 年 9 月 18 日)



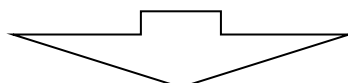
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
薬学部・講師	薬学部・講師	大西 敦	テーマ2メンバー 血栓溶解剤のPOC確 立と実用化

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
大腸がんモデル動物の作 製と経口投与抗体の薬効 評価	薬学部・講師	中村 孝博	経口投与抗体治療薬の POC 確立

(変更の時期:平成 26 年 9 月 18 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
帝京平成大学・薬学 部・講師	明治大学・農学部・講師 (帝京平成大学・薬学部・ 特別研究員)	中村 孝博	大腸がんモデル動物の 作製と経口投与抗体の 薬効評価

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

【研究プロジェクトの目的・意義】

近年、全く新規な医薬品を創出する成功確率は低下傾向にあり、特に我が国では顕著である。それに伴い医薬品の開発費は増大し、医療費の高騰を招いており、医療経済上の問題となっている。私たちは、既存のプロダクト(ドロップした医薬候補品、薬剤耐性出現で使用されなくなった医薬品、副作用の強い医薬品)を、組換えビフィズス菌、一本鎖抗体を利用して新規な医薬品としてリバイバルさせる技術開発を目指す。このような技術開発による創薬イノベーションは、高齢者が増加し、年々医療費負担が増大している我が国においては、将来的に大きな経済効果を現すものと期待される。

【計画】

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

### 研究テーマ 1「組換えビフィズス菌を DDS として利用する医薬品リバイバル技術開発」

静脈内投与により腫瘍内の嫌気性領域で特異的に増殖するビフィズス菌を腫瘍組織へのドラッグデリバリーシステムとして用いる。遺伝子組換え技術によりイムノトキシン(抗体・毒素融合体)や細胞死誘導抗体などをビフィズス菌に発現・分泌させて抗腫瘍効果を得ており、これらの組換えビフィズス菌を用いた癌に対する医薬品の開発につなげるため、非臨床を目指した研究から非臨床研究までの研究を計画した。

1 非臨床を目指した研究項目	5年後の到達目標
①ヒトへ投与可能な組換えビフィズス菌作製	ベクタープラスミドから大腸菌由来配列の除去 最適投与ビフィズス菌量の決定 ビフィズス菌栄養補助剤の開発
②ヒトへ投与可能な組換えビフィズス菌の生産	大量安定供給可能な菌培養条件の決定 凍結保存条件の決定
③ビフィズス菌の薬効増大	分泌発現系の改善 腫瘍部位到達菌数の増大
④組換えビフィズス菌に分泌発現させる新規タンパク質の探索	新たな抗腫瘍組換えビフィズス菌の創生

#### 詳細説明

##### 研究項目①

既に特許出願しているイムノトキシン(抗 EGFR(上皮細胞成長因子受容体)アルパカー本鎖抗体(VHH 抗体)/緑膿菌外毒素 A 融合蛋白質)発現組換えビフィズス菌、抗 TRAIL-R(細胞死誘導リガンド受容体)アルパカー本鎖抗体発現組換えビフィズス菌を非臨床、臨床試験に使用できるものにするための研究を行う。

##### 研究項目②

臨床試験用の組換えビフィズス菌を大量供給する方法を確立しておく必要がある。

##### 研究項目③

分泌発現させる外来タンパク質によって、至適発現量が異なるため、発現量を増加させる方法を開発しておくことが必要となる。

##### 研究項目④

がん細胞に細胞死を誘導する抗 EGFR イムノトキシン、抗 TRAILR 抗体多量体以外の作用機序で働く新たな組換えビフィズス菌の研究開発をバックアップとして進める。

2 非臨床研究項目	5年後の到達目標
①ターゲットがん種	臨床試験可能なターゲットがん種での抗腫瘍ビフィズス菌の効果確認
②組換えビフィズス菌の GLP 生産	外注先の選定と GLP 生産*
③大動物(イヌ、サル)を使った組換えビフィズス菌の安全性研究	外注先の選定と予備的安全性試験実施*

\*臨床試験ができる導出先(製薬企業、バイオベンチャー)との提携が必要。

#### 詳細説明

##### 研究項目①

5年生存率の極めて低いがん種(すい臓がん、悪性中皮腫など)に対して薬効を示す組換えビフィズ

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

ス菌を開発することで、臨床試験を実施しやすくなり、非臨床、臨床試験に向けて導出先が見出しやすくなる。

#### 研究項目②、③

非臨床試験実施に向けて、GLP 生産を準備する必要がある。非臨床試験用のサンプルの生産・精製、アンプル封入、および非臨床安全試験の実施には、多額の費用が発生するため、臨床試験ができる導出先(製薬企業、バイオベンチャー)との提携を前提とする。

#### 研究テーマ 2「アルパカー本鎖 VHH 抗体を利用した医薬品リバイバル技術開発」

①薬効があっても副作用が強い、患部に十分な量が届かず薬効が出ないという理由で医薬品となっていないものとして、血栓溶解剤(①-1)、抗腫瘍抗体(①-2)、②薬剤耐性化によって使用できなくなっているものとして、多剤耐性緑膿菌に対する抗菌薬を取り上げ、それらをリバイバルさせる技術を開発するため、まずは POC(Proof of Concept)を目指した研究を行い、POC を達成したテーマについて非臨床を目指した研究段階に進めるべく計画した。

1 POC を目指した研究	5 年後の到達目標
①-1 組換えヘビ毒を使った血栓溶解剤の作製	インビトロでのフィブリン結合性とフィブリン分解活性の証明 血栓モデル動物を用いた効果確認
①-2 抗 TRAILR 単鎖抗体による自然発症大腸がんに対する薬効確認	自然発症大腸がんマウスモデル作製 上記モデルにおける単鎖抗体の抗腫瘍活性の証明 単鎖抗体の経口投与による効果の確認
② 抗排出ポンプ単鎖抗体による抗緑膿菌抗菌薬の MIC 低減	インビトロでの抗緑膿菌薬 MIC 低減効果の証明 緑膿菌感染モデルでの抗緑膿菌薬の ED50 低減効果の確認

#### 詳細説明

##### 研究①-1

米国で開発された血栓溶解剤 Altimeprase は血清中の  $\alpha$ -macroglobulin ( $\alpha$ -2M)により不可逆的に不活性化されるため、期待された効果が見られず、第 2 相臨床試験でドロップした。生体の  $\alpha$ -2M に結合して不活性化されないフィブリン分解活性をもつヘビ毒をベースに、フィブリン結合ドメインを付加した遺伝子組換えタンパク質を作製し、その活性をインビトロ、インビボで評価して POC を得る。

##### 研究①-2

単鎖抗体 VHH は、通常の抗体 IgG に比べて分子量が小さく、物理化学的に安定であり、組換え体の生産が比較的容易であり、経口投与による活性発現の可能性が高い。自然発症大腸がんマウスモデルを作製し、抗マウス TRAILR 単鎖抗体の抗腫瘍活性(腹腔、経口投与)を確認して、POC を得る。経口投与ルートでは、抗 TRAILR 抗体の肝障害リスクを回避できる。

##### 研究②

臨床で問題となっている多剤耐性緑膿菌に対する抗菌薬の抗菌活性を上昇[最小発育阻止濃度(MIC)を低下]させる抗菌薬併用補助薬(抗排出ポンプ単鎖抗体)を開発する。インビトロ、インビボ(緑膿菌感染モデル)での効果を確認して POC を得る。

2 非臨床を目指した研究	5 年後の到達目標
①-1 組換えヘビ毒タンパク質の大量生	予備的安全性試験実施(外注)*

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

産・精製	
①-2 抗 TRAILR 単鎖抗体の大量生産・精製	予備的安全性試験実施(外注)* 抗ヒト TRAILR 単鎖抗体の腸溶性カプセル化*
② 抗排出ポンプ単鎖抗体の大量生産・精製	予備的安全性試験実施(外注)*

\*GLP 生産、非臨床試験ができる導出先(製薬企業、バイオベンチャー)との提携が必要。

#### 詳細説明

①-1、①-2、②の研究のうち、POC が得られたものについて特許出願を行い、導出先企業を探す。GLP 生産、非臨床試験については、多額の費用がかかるため、導出先(製薬企業、バイオベンチャー)との提携を前提とする。

### (2) 研究組織

研究代表者: 石田功(プロジェクトおよびテーマ 2 の方針決定、テーマ 2 サブテーマ推進)

テーマ1リーダー: 平裕一郎

テーマ 1 メンバー: 大学教員 3 名 + RA2 名 + PD1 名(最初の 2 年間のみ)

テーマ 2 リーダー: 石田功

テーマ 2 メンバー: 大学教員 3 名 + 特別研究員(明大農)1 名 + RA1 名

#### 【研究チーム間の連携】

シンバイオ製薬と共同研究を実施した 1 年間は、代表者とテーマ 2 メンバー 1 名が共同研究実験に関わった。

#### 【研究支援体制】

帝京平成大学総務チームは、プロジェクト予算措置、RA、PD の雇用契約、特許出願に関わる事務作業・費用支出、及びシンバイオ製薬との共同研究契約書、バイオベンチャー企業(日本、未上場)との覚書(本学技術の製薬企業への導出)に関わる事務作業・研究費受入を支援した。

#### 【提携研究機関との連携】

研究資料の入手の他、サブテーマにおける研究アプローチの見直し時に、必要に応じて助言をもらった。定期的に研究進捗状況を報告し、技術導出のためのプレゼン資料をアップデートした。

### (3) 研究施設・設備等

#### 【研究施設】

中野キャンパス先端技術開発センター(面積: 735 m<sup>2</sup>、使用者数: 74 人)

#### 【研究設備】

1) Profinia タンパク質精製システムと Experion 自動電気泳動システム

2) BACTRON IV (嫌気性チャンバー)

3) 全自動 ELISA マイクロプレートプロセッサ

4) AKTA pure 25 L1(組換えタンパク質精製システム)

### (4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び\*を付すこと。

研究テーマ 1「組換えビフィズス菌を DDS として利用する医薬品リバイバル技術開発」

#### 1 非臨床を目指した研究項目

##### 研究項目①

##### ・発現ベクタープラスミド作製

これまでの実験に使用していた発現ベクタープラスミド pKKT427 は大腸菌とビフィズス菌で増殖可能なシャトルベクターであり、ColE1ori 領域が含まれているため、大腸菌に水平伝播する可能性があった。非臨床試験用に pKKT427 ベクターから ColE1ori 領域を除いた抗 TRALIR1 VHH3 量体発現ベクタープラスミドを作製した。本ベクターを導入した組換えビフィズス菌は、インビトロ培養試験において pKKT427 ベクターと同等な保持率を有し、インビボ抗腫瘍活性において pKKT427 ベクターと同等以上

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

の抗腫瘍活性を示した。

・組換えビフィズス菌投与量

ヒト皮膚がん(A431)、ヒト肺がん(PC-9)、ヒトすい臓がん(BxPC-3)皮下移植ヌードマウスに対して抗腫瘍活性を示す抗EGFRイムノトキシン発現分泌組換えビフィズス菌(<特許>\*2\*5\*6 <雑誌論文>\*1\*2 <図書>\*1~\*3 <学会発表>\*13\*14\*17~\*20)の投与最小菌数は、 $3 \times 10^9$ 個であった。ヒト肺がん(PC-9)、ヒトすい臓がん(BxPC-3)皮下移植ヌードマウスに対して抗腫瘍活性を示す抗TRALIR1 VHH3 量体発現分泌組換えビフィズス菌(<特許>\*1\*3\*4 <雑誌論文>\*1\*2 <学会発表>\*12~\*18)の投与最小菌数は、 $3 \times 10^7$ 個であった。

・栄養補助剤

ビフィズス菌を腫瘍内で増殖させるために、資化糖のラクツロースまたはマルトースをマウス腹腔内投与する。ヒトではマルトースを点滴静注する。非侵襲的な経口投与用の栄養補助剤として、血糖値を上げないヒト用のサプリメントに注目して、腫瘍内組換えビフィズス菌の増殖への効果を検討した。腫瘍内で増殖・蓄積した組換えビフィズス菌量をマルトース腹腔内投与と比較したところ、サプリメント経口投与でもそんな結果を得た。

研究項目②

・培養培地

通常使用しているビフィズス菌増殖用 MRS 培地には、ウシ由来の肉エキスが含まれている。ヒトに使用するためには、動物由来成分を含まない培養条件が望ましい。ヒトに使用されている輸液製剤、注射用アミノ酸液、ビタミン液、生理食塩水、注射用水を使い、直接輸液バックの中で組換えビフィズス菌を培養する方法を考案した(嫌気培養器を必要としない培養法)。

・精製・凍結保存

通常使用しているビフィズス菌の精製・濃縮には、遠心分離法を使っている。精製工程は嫌気条件でないため、大量の菌を短時間で処理する必要がある。タンジェンシャルフロー限外ろ過装置を使用することにより、大量の組換え菌を無菌下短時間で、精製・濃縮を行う方法を確立した。この方法により、点滴静注用 10%グリセリン液(グリセレブ)に懸濁された組換えビフィズス菌を得る。菌凍結時の菌数、pH、融解時の条件を検討して、菌投与時に最も菌生存率の高い条件を決定した。

研究項目③

・分泌発現系の改善

既報のビフィズス菌の培養フェーズごとのマイクロアレイ解析データから、培養後期で発現する遺伝子を選択し、それらのプロモーターの発現活性を検討した。培養 8 時間で高発現を維持するプロモーターを見出した(<学会発表>\*9)。T7 ポリメラーゼ発現系のビフィズス菌への導入による外来遺伝子の発現増大に関しては、未だ結果が出ていない。

・腫瘍部位到達菌数の増大

マウスがん細胞を皮下移植したマウス(B16 メラノーマ+BL6 マウス、Colon26+Balb/c マウス)、ヒト肺がん(PC-9)を皮下移植したヌードマウスを使って、ニトログリセリンテープ貼布による組換えビフィズス菌の腫瘍部位到達菌数増大効果を調べた。ニトログリセリンテープ貼布により顕著な菌の蓄積量増大が見られ、ヒト TNF $\alpha$ 発現分泌ビフィズス菌を投与した B16 メラノーマ皮下移植 BL6 マウスにおいて、腫瘍部位での組換えビフィズス菌量の増大とともに抗腫瘍効果の増大が確認できた(<学会発表>\*1\*10)。

研究項目④

がん細胞内で活性化される転写因子に対する抗体を発現分泌する組換えビフィズス菌を作製した。

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

本組換えビフィズス菌は、マウスがん細胞を皮下移植したマウス(B16 メラノーマ+BL6 マウス、Colon26+Balb/c マウス)において、抗腫瘍効果を示した。本技術に関する特許出願を予定している。

## 2 非臨床研究項目

### 研究項目①

ヒトすい臓がん細胞株(BxPC-3)をヌードマウスに皮下移植した担がんマウスモデルを使い、抗EGFR イムノトキシン、抗ヒト TRAILR1 VHH3 量体を分泌発現する組換えビフィズス菌の静注によるすい臓がんに対する抗腫瘍活性を示した(〈特許〉\*1~\*6 〈雑誌論文〉\*1\*2 〈学会発表〉\*5\*12~\*20)。アスベスト暴露が強く疑われる日本人患者由来の悪性中皮腫細胞株(MESO-4)皮下移植した担がんマウスモデルを使い、抗ヒト TRAILR2 VHH4 量体を分泌発現する組換えビフィズス菌の静注による悪性中皮腫に対する抗腫瘍活性を示した。

### 研究項目②、③

シンバイオ製薬がすい臓がんをターゲットとした抗ヒト TRAILR1 VHH3 量体分泌発現組換えビフィズス菌の臨床開発に興味を持ち、平成 28 年 2 月~平成 29 年 2 月までの支援を受けた。組換えビフィズス菌医薬で先行して、2013 年から米国で臨床第 1 相試験を進めているアネロファーマ社の結果が発表されていないことなどの理由から支援は、1 年で打ち切られた。組換えビフィズス菌 GLP 生産の外注先を選定していたが、実施することはできなかった。平成 29 年 1 月からは、バイオベンチャー企業(日本、未上場)と覚書を交わし、本学技術の導出先を探し、非臨床試験の実施を目指しているが、現在のところ見つかっていないため、組換えビフィズス菌の GLP 生産、安全性試験は未実施となった。

### <優れた成果が上がった点>

#### ・抗腫瘍ビフィズス菌

抗ヒト TRAILR1 VHH 抗体、抗ヒト TRAILR2 VHH 抗体分泌発現組換えビフィズス菌は、それぞれ臨床ターゲットがん種として有望なヒトすい臓がん、ヒト中皮腫に対して抗腫瘍活性を示した。左記技術に関する特許について、日本および米国で特許を取得できた。

#### ・非臨床に向けた研究

ヒトに投与可能な大腸菌由来配列を除いたベクタープラスミドを作製した。

ヒトに投与可能なビフィズス菌の培養法、精製法、凍結保存法を確立した。

臨床で使用可能なビフィズス菌の腫瘍部位蓄積量増大方法を見出した。

菌増殖補助薬として使われているマルトース点滴静注に代わる経口補助薬として、血糖値を上げないサプリメントを見出した。

### <課題となった点>

本学の抗腫瘍組換えビフィズス菌薬を非臨床、臨床試験に進めるためには経験と開発資金が必要であり、製薬企業、バイオベンチャー企業との提携が必要であるが、未だ見つからない。

### <自己評価の実施結果と対応状況>

5 年後の到達目標に対する現在までの進捗および対応状況を以下の表にまとめた。

1 非臨床を目指した研究項目 5 年後の到達目標	現在までの進捗	対応状況
① ベクタープラスミドから大腸菌由来配列の除去 最適投与ビフィズス菌量の決定 ビフィズス菌栄養補助剤の開	大腸菌プラスミド除去ベクター作製 最小菌投与量は、発現分泌させる外来タンパク質によって変化した。 ( $3 \times 10^9 \sim 3 \times 10^7$ cfu/mouse) 血糖値を上げない経口投与補助	完了。

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

発	剤を見出した	
② 大量安定供給可能な菌培養条件の決定 凍結保存条件の決定	MRS培地と同程度の菌増殖性のある動物由来成分不含培地レシピ作製。 タンジェンシャルフローによる培地成分除去法を確立。 最適菌凍結・再融解条件を決定。	完了。
③ 分泌発現系の改善 腫瘍部位到達菌数の増大	新規発現プロモーターによる外来タンパク質の分泌量が改善。 ニトログリセリンテープによる腫瘍内への菌蓄積量の増大と薬効増大を確認。	完了。
④ 新たな抗腫瘍組換えビフィズス菌の創生	がん細胞内在化抗転写因子抗体分泌ビフィズス菌作製	特許出願を予定。

2 非臨床研究項目 5年後の到達目標	現在までの進捗	対応状況
① 臨床試験可能なターゲットがん種での抗腫瘍ビフィズス菌の効果確認	膵臓がん、中皮腫細胞移植モデルマウスで効果確認	膵臓がん、中皮腫をターゲットにした組換えビフィズス菌の導出活動を行っている。
② 外注先の選定とGLP生産	引き続き本学技術の導出先がみつからず、未達成	同上
③ 外注先の選定と予備的安全性試験実施	同上	同上

#### <外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

外部評価者意見	対応状況
製薬企業への導出あるいは臨床試験に向けた非臨床 GLP 試験の実施は未達であるが、アカデミアにおける通常の研究・教育活動から大きく乖離するこれらの業務を、研究室あるいは学科単位のみで担うことは極めて困難であると思われる。この点において、本支援事業により得られた知財をスムーズに産業界に橋渡しする、事業開発・提携の機能を持つ組織の存在が、実用化には必要不可欠と考えられる。	本学には TLO(技術移転機関)がない。帝京グループの帝京大学にある TLO と協力関係を強めていく。

#### <研究期間終了後の展望>

引き続き本学の抗腫瘍組換えビフィズス菌技術(国内外特許取得済み)を製薬企業、バイオベンチャー企業に導出する活動を続けることで、日本発の医薬品に結び付けたい。最近、ビフィズス菌医薬の臨床試験で先行しているアネロファーマ社(日本)は、日本の製薬会社と提携したことを考えると、組換えビフィズス菌医薬が実用化される状況が醸成されつつあると考えられ、私たちにとっても追い風になると考えている。



法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

### <研究成果の副次的効果>

本プロジェクトでは、全てのテーマが医薬品につながる開発テーマとなっており、本学薬学部の教員の中にベンチャーマインドが醸成されつつある。

### 研究テーマ 2「アルパカー本鎖 VHH 抗体を利用した医薬品リバイバル技術開発」

#### 1 POC を目指した研究

##### 研究①-1

本研究で着目したハブ毒由来タンパク質フィブリン分解酵素は、Alfimeprase 様分子であるが、Alfimeprase と異なりフィブリン塊分解活性を持ち  $\alpha$ 2M により不活性化されないが、出血活性を持つという欠点がある。出血活性は毒タンパク質の活性部位周辺の塩基性アミノ酸残基が基底膜と結合することで発現すると考えられており、活性部位周辺における特徴的な塩基性アミノ酸残基を特定し、出血活性を欠損した変異体の作製(<雑誌論文> \*4\*5 <学会発表> \*2\*7\*11)を試みた。

フィブリン分解酵素の 3 重変異体(Mutant1)、および 4 重変異体(Mutant2)をデザインし、人工遺伝子を合成した。バキュロウイルス発現系 Bac-to-Bac System を用いて作製した 3 種の組換えタンパク質は、可溶性タンパク質と予想されたにも関わらず、分泌タンパク質としては発現しなかった。目的タンパク質の N 末端側にミツバチ毒メリチンのシグナルペプチドを付加した遺伝子を合成し、再度バキュロウイルス発現系で組換えタンパク質の発現を行った。その結果、シグナルペプチドを付加した Original、Mutant1、Mutant2 は全て可溶性タンパク質として培地中への分泌が確認できた。これら組換えタンパク質は、HisTrap カラム、陰イオン交換カラムを用いて精製を行ったが、精製の進行に伴って、目的タンパク質は凝集、不溶化した。粗精製ではあるが 3 種類の組換えタンパク質の Fibrin 分解活性を確認した結果、全てにおいて Fibrin 分解活性が示された。

##### 研究①-2

#### 1. 大腸がんモデルマウスの作製

ヒトの家族性大腸腺腫症のモデル動物として大腸がん研究に広く使われている APCmin マウス(C57BL/6J 系統)に Dextran sulfate sodium (DSS) を飲水投与し大腸がんの有無を検討した。6-8 週齢 APCmin マウスに 2%DSS を 1 週間飲水投与する方法で効率的に大腸がんを発生させ、DSS 投与後平均して  $8.6 \pm 0.73$  週( $n = 10$ )で死に至ることが分かった(<学会発表> \*3\*4)。死亡時期直前に小腸及び大腸に観察されたポリープ数を計測したところ、小腸では  $32.2 \pm 9.89$  個( $n = 6$ )、大腸では  $12.3 \pm 3.89$  個( $n = 6$ )であった。更に APCmin マウスに p16Ink4a-luc 形質を導入した APCmin-p16Ink4a-luc マウスを作製して、化学発光による腫瘍のイメージングを試みた。週齢を重ねるごとにルシフェラーゼ発光量が上昇し、ある積算量を超えると死亡する傾向が見られたが、1 週間ごとの計測では個体間のデータのばらつきが大きく、より細かなルシフェラーゼ発光量の計測が必要であると考えられた。

#### 2. TRAILR を標的とした抗腫瘍抗体の開発

既に特許出願している抗ヒト TRAILR1VHH 抗体 3 量体(<特許> \*1\*3\*4 <雑誌論文> \*2 <学会発表> \*12\*14~\*17)については、大腸菌、ブレビバチルスで大量発現系を構築し、ピフィズス菌で発現したときと同様な活性をもつ抗体を得ている。さらに、治療抗体の有効性、安全性を予測するため、血中や糞便中の抗体を定量する酵素免疫測定法(ELISA)の開発を行った(<学会発表> \*5)。抗体の薬効や副作用発現の予測が可能になる。

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

マウス TRAILR に対するアゴニスト抗体を得るため、TRAILR の細胞外領域と免疫グロブリン G Fc 領域の融合タンパク質を抗原としてアルパカに免疫し、抗体価の上昇を確認した後、白血球を回収した。VHH 抗体遺伝子ライブラリーを作製し、ファージディスプレイ法により TRAILR に結合するファージを複数単離した。抗体を分泌発現する細胞を作製し、その培養上清から抗体を精製した。この抗体はマウス TRAILR に特異的に結合することがわかった。多量体抗体を分泌発現する細胞を作製・精製し、マウス繊維芽細胞由来のがん細胞に対する細胞死誘導活性を調べた結果、抗腫瘍薬と併用したときに細胞死が誘導されることがわかった。

### 3. 大腸がんモデルマウスを使った抗マウス TRAILR VHH アゴニスト抗体の薬効評価

大腸がんを自然発症するマウス (APC<sup>min-p16Ink4a-luc</sup>) を用いて、抗マウス TRAILR VHH アゴニスト抗体投与による治療効果が見られるかどうか検討した。大腸がんの発症を促進するため、2%DSS を 1 週間飲水投与した後、抗体を腹腔内に投与した。マウスは病気の進行に伴って、血便や下痢が見られ、体重が減少し、死に至る。コントロール群と比較して、抗体投与群で生存率の上昇が見られた。抗体投与群では腸管のポリープ数の減少が観察され、治療効果があると考えられた。経口投与でも治療効果が見られるか、今後の解析が必要である。

## 研究②

### 1. 排出ポンプに結合する一本鎖 VHH 抗体の作製と抗菌薬補助効果

排出ポンプ由来ペプチド(キャリアタンパク質を結合)を抗原として、アルパカに免疫し、抗体価の上昇を確認した後、白血球を回収した。VHH 抗体遺伝子ライブラリーを作製し、ファージディスプレイ法によりループペプチドに結合するファージを複数単離して VHH DNA 配列情報を得た。配列情報をもとに、VHH 抗体遺伝子を合成し、大腸菌発現系で組換え体を発現・精製した。VHH 抗体は EndoTrap を用いてエンドトキシンを除去した。

この VHH 抗体と抗菌薬の併用における多剤耐性緑膿菌 (NCGM2.S1) の増殖抑制効果を、微量液体希釈法により検討した。抗排出ポンプ VHH 抗体添加群では、ペプチド系抗菌薬コリスチンの MIC (最小発育阻止濃度) が低下した。コリスチン、ポリミキシン B 以外の抗菌薬の MIC は変化しなかった。コリスチンの副作用は腎障害と神経毒性であり、腎障害は用量依存的に発現頻度が高くなるとされる。VHH 抗体とコリスチンの併用により、コリスチンの使用量を減少させることができれば、治療に用いる際の副作用を低減できると期待される。

### 2. D-アミノ酸含有ペプチドの病原性細菌に対する抗菌活性と抗菌薬の併用効果

グラム陰性菌のアニオン性脂質膜を破壊する D アミノ酸含有ペプチド(DP0)が報告されている (McGrath et al, PNAS, 2013)。DP0 の N 末端、C 末端にシステインを付加した GDP、DPC を化学合成した。各 D-ペプチドについて、病原性細菌に対する抗菌活性、抗菌薬との併用効果を検討し、ヒト培養細胞に対する細胞毒性を評価した。DPC と DPC2 量体は多剤耐性緑膿菌株においても耐性を示さず、最も抗菌活性が高かった (DP0 の 8~16 倍)。DPC はコリスチン併用時に相乗効果を示した (<学会発表> \* 8)。DPC はアシネトバクターと大腸菌に対する抗菌活性も最も高かった。DPC は緑膿菌に対する MIC の 5 倍濃度で培養ヒトがん細胞の増殖抑制を示した。DPC の多剤耐性緑膿菌 (NCGM2.S1) における MIC は、抗ループ 2 VHH 3 量体との併用、0.1 µg/ml のコリスチンとの併用時には変化しなかったが、抗ループ 2 VHH 3 量体と 0.1 µg/ml のコリスチンを同時に添加すると 1/2 に低下した。VHH 抗体、コリスチンと DPC の併用は、コリスチンと DPC の使用量を低減できる可能性がある。

### 3. カイコ緑膿菌感染モデルの作製とコリスチンの治療有効量評価

VHH 抗体の *in vivo* における有効性を評価するため、カイコを用いた系を構築した。カイコには哺乳

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

動物と同様に P450 による第 I 相反応、抱合酵素による第 II 相反応が存在し、抗菌薬の治療有効量 ED<sub>50</sub> はカイコとマウスでよく一致する。多剤耐性緑膿菌 (NCGM2.S1) におけるコリスチン MIC は 1.6 μg/ml で、ED<sub>50</sub> は MIC の 56 倍であった。カイコ緑膿菌感染モデルはコリスチンの血液注射で感染死が抑制されたことから、構築した系を用いて VHH 抗体の *in vivo* における有効性を評価できると考えられた。

## 2 非臨床を目指した研究

研究①-1、①-2、②の全てにおいて、動物モデルにおける薬効評価の段階まで到達できなかったため、非臨床を目指した研究については未達成となった。

### <優れた成果が上がった点>

#### 研究①-1

生体内の α-2M で急速に不活性化されるために、臨床第2相でドロップしたガラガラヘビ毒由来 Alfimeprase (出血活性はない) に対して、私たちは α-2M にトラップされないハブ毒由来タンパク質 (出血活性がある) を見出し、3D モデリングにより出血活性に起因すると考えられる塩基性アミノ酸の変異体をデザインでき、変異体がフィブリン分解酵素活性を保持していたことは成果として挙げられる。

#### 研究①-2

APCmin マウスに DSS を飲水させることで作製した大腸がんモデルマウスは、成果として挙げられる。

#### 研究②

多剤耐性緑膿菌に対するコリスチンの MIC を低減させる抗菌薬併用補助薬を見出したことは、成果として挙げられる。

### <課題となった点>

#### 研究①-1

遺伝子組換え変異体の精製が難しい点。

#### 研究①-2

作製した大腸がんモデルマウスにおいて、当初の目標であった抗体の経口投与による抗腫瘍効果を見るまでに至らなかったこと。

#### 研究②

インビトロでの効果の証明に留まったこと。

### <自己評価の実施結果と対応状況>

5年後の到達目標に対する現在までの進捗および対応状況を以下の表にまとめた。

1 POC を得る研究 5年後の到達目標	現在までの進捗	対応状況
研究①-1 インビトロでのフィブリン結合性とフィブリン分解活性の証明 血栓モデル動物を用いた効果確認	ハブ毒由来組換えタンパク質を作製。 変異体のフィブリン分解活性は確認 (インビトロ)。 インビボモデルは未実施。	精製度を上げた時に生じる凝集を妨げる物質 (タンパク質、アミノ酸等) を探索。 出血活性の有無を確認 (共同研究者: 沖繩衛生研)。
研究①-2 自然発症大腸がんマウスモデル作製 上記モデルにおける単鎖抗体の抗腫瘍活性の証明	APCmin マウス (+/-2%DSS 投与) で、小腸・大腸に腺腫を確認。 抗マウス TRAILR 抗体の効果を確認。	経口投与試験を計画 (POC を得る実験)。 2%DSS 飲水の有無による抗マウス TRAILR 抗体の効果の違いの有無を見る実験を計画。

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

単鎖抗体の経口投与による効果の確認	経口投与は未実施。	
研究② インビトロでの抗緑膿菌薬 MIC 低減効果の証明 緑膿菌感染モデルでの抗緑膿菌薬の ED50 低減効果の確認	インビトロでのコリスチン MIC 低減効果確認。 カイコを使った緑膿菌感染モデル立ち上げ。 カイコ感染モデルでの効果未確認。	カイコ感染モデルでの効果確認実験を計画(POC を得る実験)。

2 非臨床を目指した研究については、研究①-1、①-2、②のどれも POC を達成できていない。現在までの進捗はいずれも未実施となった。対応としては、それぞれの研究において、POC を達成する実験を実施することを計画。

<外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

外部評価者意見	対応状況
各テーマについて、実用化に際し研究室レベルにおける重大な技術課題は何れも克服された、あるいはその見込みができた段階に概ね達したものと考えられる。	テーマ2の課題については、POC が得られる見込みができた段階で、いずれの課題も未だ POC が得られていない。できるだけ早く POC を得るべく研究を進める。

<研究期間終了後の展望>

当初の目標どおり、研究①-1、①-2、②において POC を達成し、特許出願・取得する。  
いずれかの研究において、GLP 生産、非臨床試験ができる導出先(製薬企業、バイオベンチャー)との提携を目指す。

<研究成果の副次的効果>

本プロジェクトでは、全てのテーマが医薬品につながる開発テーマとなっており、本学薬学部の教員の中にベンチャーマインドが醸成されつつある。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 遺伝子組換えビフィズス菌 (2) 一本鎖抗体 (3) \_\_\_\_\_  
 (4) \_\_\_\_\_ (5) \_\_\_\_\_ (6) \_\_\_\_\_  
 (7) \_\_\_\_\_ (8) \_\_\_\_\_

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには\*を付すこと。

<雑誌論文>

【2018年度】

\* 1. Taira I., Taira Y., Kato M., Shimizu Y., Isoda K., Saitou H., Ishida I. Reviving previous therapeutics by recombinant anaerobic bifidobacteria. Mini-review, Biomed J Sci & Tech Res Vol.12-issue 5, (2019).

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

\* 2. Taira Y., Taira I., Nishikawa T., Ishida I. Development of an Anticancer Therapy Using Recombinant Bifidobacterium as a New Drug Delivery System (DDS). *Yakugaku Zasshi*, 138, 923-930, (2018).

\* 3. Utoguchi N, Taira Y Forefront of Cancer Targeting Therapy *Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 2018 138(7) 901-902, (2018).

**【2015年度】**

\* 4. Ohnishi A, Watanabe J, Ogawa Y, Goto Y, Hattori A, Tsujimoto M. "Involvement of Phenylalanine 297 in the construction of the substrate pocket of human aminopeptidase B." *Biochemistry*, 54, 6062-6070, (2015).

**【2014年度】**

\* 5. Ogawa Y, Ohnishi A, Goto Y, Sakuma Y, Watanabe J, Hattori A, Tsujimoto M. "Role of glutamine-169 in the substrate recognition of human aminopeptidase B." *Biochim. Biophys. Acta.*, 1840, 1872-1881, (2014).

<図書>

**【2018年度】**

\* 1. 平裕一郎、平郁子、石田功「組換えビフィズス菌を用いた医薬品リバイバル技術」、バイオ医薬品の開発と市場（シーエムシー出版）、pp118-129 (2018).

**【2017年度】**

\* 2. 平裕一郎、平郁子、石田功「抗体薬物複合体におけるDDSの評価」、DDS先端技術の製剤への応用開発（技術情報協会刊）、pp484-492 (2017).

**【2016年度】**

\* 3. 平裕一郎「抗EGFR抗体-緑膿菌外毒素Aサブユニット融合体とビフィズス菌DDSによる抗腫瘍薬の開発」、抗体薬物複合体(ADC)の設計開発（シーエムシー出版）、pp119-128 (2016).

<学会発表>

**【2018年度】**

\* 1. 第139年会日本薬学会(千葉)(2019年3月)「EUR効果増強剤によるビフィズス菌腫瘍内集積数の増大」加藤雅和、平裕一郎、平郁子、川口愛夏、矢部貴美恵、大野華世、小倉佑太、後藤凧、清水芳実、磯田勝広、斎藤浩美、石田功

\* 2. 第139年会日本薬学会(千葉)(2019年3月)「アミノペプチダーゼBの基質特異性の解析」高橋英絵、田上孝平、松田久美、渡部瞭、大西敦、辻本雅文

\* 3. 第25回日本時間生物学会学術大会(長崎)(2018年10月20~21日)「慢性的なアドバンスシフトはAPCminマウスの死亡率を増加する」徳井牧穂、直井実穂、中村孝博

\* 4. International Symposium on Biological Rhythms (Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki) (October 19, 2018) 「Chronic advance shifts increase mortality in APCmin mice」Makiho Tokui, Miho Naoi, Takahiro J. Nakamura

\* 5. 第62回日本薬学会関東支部大会(東京)(2018年9月15日)「がん細胞死誘導活性をもつTRAIL-R1を標的とした新規3価VHH抗体分泌ビフィズス菌の安全性」西川毅、藤園友里、小出圭悟、平郁子、平裕一郎、石田功

\* 6. 第62回日本薬学会関東支部大会(東京)(2018年9月15日)「CL4指向性抗腫瘍蛋白質を分泌する組換えビフィズス菌の作製」榎本健太、清水芳実、山内友梨奈、平裕一郎、平郁子、磯田勝広、

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

斎藤浩美、石田功

\* 7. 第 62 回日本薬学会関東支部会(東京)(2018 年 9 月 15 日)「アミノペプチダーゼ B 変異体の酵素活性及び基質特異性の解析」高橋英絵、田上孝平、松田久美、渡部瞭、大西敦、辻本雅文

\* 8. 第 62 年回日本薬学会関東支部大会(東京)(2018 年 9 月 15 日)「多剤耐性緑膿菌に対する D-ペプチドと抗菌薬の併用効果」大野まき、良原栄策、切替照雄、西川毅、石田功

【2017年度】

\* 9. 第 138 年会日本薬学会(金沢)(2018 年 3 月)「ビフィズス菌の蛋白質発現向上に向けたプロモーターの探索と体内動態解析」清水芳実、榎本健太、磯田勝広、平裕一郎、平郁子、斎藤浩美、石田功

\* 10. 第 138 年会日本薬学会(金沢)(2018 年 3 月)「TNF- $\alpha$ 発現・分泌組換えビフィズス菌のマウス悪性黒色腫モデルを用いたがん免疫療法への応用検討」加藤雅和、平裕一郎、平郁子、清水芳実、磯田勝広、斎藤浩美、石田功

\* 11. 日本農芸化学会平成 30 年度大会(名古屋)(2018 年 3 月)「アミノペプチダーゼ B の基質特異性解析」大西敦、辻本雅文

\* 12. 平成 29 年度日本生化学会関東支部例会(東京)(2017 年 6 月 17 日)「細胞死誘導活性をもつ TRAIL-R1 を標的とした新規 3 価 VHH 抗体の大腸菌発現」西川毅、石田功

【2016年度】

\* 13. 第 137 年会(仙台)日本薬学会(2017 年 3 月 26 日)一般シンポジウム「がんターゲットング療法の最前線」「組換えビフィズス菌を DDS として用いた癌治療法の開発」平裕一郎

\* 14. 2016 アカデミックフォーラム(2016 年 5 月 11 日～13 日、東京国際展示場)「遺伝子組換え嫌気性菌による固形がん治療」石田功、平裕一郎、平郁子、西川毅

【2015年度】

\* 15. 第 136 年会日本薬学会(横浜)(2016 年 3 月 28 日)「TRAIL-R1 を標的とした新規 3 価 VHH 抗体を分泌するビフィズス菌によるがん治療」西川毅、平裕一郎、平郁子、斎藤浩美、磯田勝広、石田功

\* 16. 第 31 回日本 DDS 学会(2015 年 7 月 2 日)、「抗 TRAIL 受容体アゴニスト一本鎖抗体 発現・分泌ビフィズス菌の抗腫瘍効果の解析」平裕一郎、西川毅、平郁子、Akter Jesmin、磯田勝広、斎藤浩美、石田功

\* 17. 2015 アカデミックフォーラム(2015 年 5 月 13 日～15 日、東京国際展示場)「遺伝子組換え嫌気性菌による固形がん治療」石田功、西川毅、平裕一郎、平郁子

【2014年度】

\* 18. 第 135 年会日本薬学会(神戸)(2015 年 3 月 28 日)「細胞死誘導抗体を分泌するビフィズス菌を利用したがん治療」西川毅、平裕一郎、平郁子、斎藤浩美、磯田勝広、石田功

\* 19. 第 58 回 日本薬学会関東支部大会(2014 年 10 月 4 日、昭和薬科大学)シンポジウム 薬剤系次世代治療と DDS 技術、「遺伝子組換え嫌気性菌によるがん治療」平裕一郎(招待講演)

\* 20. 2014 アカデミックフォーラム(2014 年 5 月 14 日～16 日、東京国際展示場)「遺伝子組換え嫌気性菌による固形がん治療」石田功、平裕一郎、平郁子、西川毅

<特許>

【2018年度】

\* 1. Takeshi Nishikawa, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Isao Ishida. Recombinant obligate anaerobic Gram-positive bacteria. 米国特許査定(2019.1.28)

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

\* 2. Yuichiro Taira, Isao Ishida. Anti-tumor agent, marker for tumor detection, and oral vaccine agent. EP2873726B1 (2018.9.5).

【2017年度】

\* 3. 西川毅、平裕一郎、平郁子、石田功「組換え偏性嫌気性グラム陽性菌」、日本特許第 6176683号(2017.7.21)

【2015年度】

\* 4. Takeshi Nishikawa, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Isao Ishida. Recombinant obligate anaerobic Gram-positive bacteria. 国際出願 PCT/WO2015/104994(2015.7.16)

\* 5. 平裕一郎、石田功「抗腫瘍剤、腫瘍検出マーカー及び経口ワクチン剤」、日本特許第6025127号(2016.10.21).

【2014年度】

\* 6. Yuichiro Taira, Isao Ishida. Anti-tumor agent, marker for tumor detection, and oral vaccine agent. 国際出願 PCT/WO2014/010758 (2014.1.16).

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

私大戦略プロジェクトキックオフミーティング(2014.9.10)、帝京平成大学。

私大戦略プロジェクト帝京大・帝京平成大合同セミナー(2015.2.23)、帝京平成大学。

私大戦略プロジェクト1年目報告会(2015.6.24)、帝京平成大学。

私大戦略プロジェクト2年目報告会(2016.8.18)、帝京平成大学。

私大戦略プロジェクト3年目報告会(2017.11.23)、帝京平成大学

私大戦略プロジェクト 3 大学合同シンポジウム「DDS研究からの創薬イノベーション」、第 62 回日本薬学会関東支部大会(帝京平成大学)(2018.9.15)

私大戦略プロジェクト 最終年度報告会(2019.5.6)、帝京平成大学

URL: <http://pharm.thu.ac.jp/research/grant.html>

<これから実施する予定のもの>

私大戦略プロジェクト報告書公開

14 その他の研究成果等

<雑誌論文>

【2018 年度】

1. Yoshimi Shimizu, Tomoko Mashima-Nemoto, Masato Hazawa, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Isao Ishida, Katsuhiko Isoda, The hepatoprotective effect of lycopene on Con A-induced liver injury in mice. Pharmazie , 73(7), 393-395, (2018).

2. Katsuhiko Isoda, Takeshi Nozawa, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Yoshimi Shimizu, Isao Ishida. Effects of surface charge and palladium on hepatic and kidney injury induced by polystyrene nanoparticles co-administered to mice with paraquat and cisplatin. Pharmazie , 73(3), 165-168, (2018).

3. Mizuta S, Sugiyama M, Tokuda IT, Nakamura W, Nakamura TJ, Photoc phase-response curves for cycling female mice, Hormones and Behavior 105:41-46, (2018).

4. Goto Y, Ogawa Y, Tsumoto H, Miura Y, Nakamura TJ, Ogawa K, Akimoto Y, Kawakami H, Endo T,

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

Yanoshita R, Tsujimoto M, Contribution of the exosome-associated form of secreted endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 to exosome-mediated macrophage activation. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1865: 874–888, (2018).

**【2017 年度】**

5. Katsuhiko Isoda, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida, Influence of nanoclay particles on hepatotoxicity and drug interaction toxicity in mice. *Toxicology Letters*, 280S:S180, (2017).

6. Katsuhiko Isoda, Ryutaro Nagata, Tomoya Hasegawa, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Yoshimi Shimizu, Kazuo Isama K, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida, Hepatotoxicity and Drug/Chemical Interaction Toxicity of Nanoclay Particles in Mice. *Nanoscale Res. Lett.* Dec;12(1):199. (2017).

7. Katsuhiko Isoda, Tomomi Daibo, Kaori Yushina, Yasuo Yoshioka, Yasuo Tsutsumi, Yoshihiro Akimoto, Hayato Kawakami, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Ryohei Yanoshita, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida, Hepatotoxicity, nephrotoxicity, and drug/chemical interaction toxicity of platinum nanoparticles in mice. *Pharmazie*, 71, 10–16. (2017).

8. Goto Y, Nakamura TJ, Ogawa K, Hattori A, Tsujimoto M, Acute-phase protein-like properties of endoplasmic reticulum aminopeptidase 1., *Journal of biochemistry* 165: 159–165 (2017).

9. Tahara Y, Takatsu Y, Shiraishi T, Kikuchi Y, Yamazaki M, Motohashi H, Muto A, Sasaki H, Haraguchi A, Kuriki D, Nakamura TJ, Shibata S, Age-related circadian disorganization caused by sympathetic dysfunction in peripheral clock regulation, *Npj Aging and Mechanisms of Disease* 3: 16030, (2017).

10. Uchida H, Nakamura TJ, Takasu NN, Obana-Koshino A, Ono H, Todo T, Sakai T, and Nakamura W. The central clock controls the daily rhythm of Aqp5 expression in salivary glands. *J Physiol Sci*. (2017).

**【2016 年度】**

11. Uchida H, Nakamura TJ, Takasu NN, Todo T, Sakai T, Nakamura W, Cryptochrome-dependent circadian periods in the arcuate nucleus, *Neurosci Lett*. 610: 123–8 (2016).

12. Shiga T, Nakamura TJ, Komine C, Goto Y, Mizoguchi Y, Yoshida M, Kondo Y, Kawaguchi M, A Single Neonatal Injection of Ethinyl Estradiol Impairs Passive Avoidance Learning and Reduces Expression of Estrogen Receptor  $\alpha$  in the Hippocampus and Cortex of Adult Female Rats, *PLoS One* 11 e0146136, (2016).

**【2015 年度】**

13. Katsuhiko Isoda, Yoshimi Shimizu, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida, Influence of polystyrene nanoparticles in inducing cytotoxicity in mice co-injected anti-inflammatory agent, tetracycline or sodium valproate. *Toxicology Letters*, 238S:S195. (2015).

14. Katsuhiko Isoda, Masuo Kondoh, Yasuo Yoshioka, Yasuo Tsutsumi, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida, Kiyohito Yagi, Silica nanoparticle-induced toxicity in mouse lung and liver imaged by electron microscopy, *Fundamental Toxicological Sciences*, 2, 19–23. (2015).

15. Nakamura TJ, Nakamura W, Tokuda IT, Ishikawa T, Kudo T, Colwell CS, Block GD, Age-related changes in the circadian system unmasked by constant conditions, *eNeuro* 2: e0064–15, (2015),

16. Takasu NN, Nakamura TJ, Tokuda IT, Todo T, Block GD, Nakamura W. Recovery from Age-Related Infertility under Environmental Light-Dark Cycles Adjusted to the Intrinsic Circadian Period. *Cell Rep*, Sep 1;12(9):1407–13, (2015).

17. Goto Y, Ogawa K, Nakamura TJ, Hattori A, Tsujimoto M. Substrate-dependent nitric oxide



法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

synthesis by secreted endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 in macrophages. J Biochem, 157(6):439-49, (2015).

【2014 年度】

18. Katsuhiko Isoda, Takeshi Nozawa, Masakazu Tezuka, Isao Ishida, Toxicity of 50-nm polystyrene particles co-administered to mice with acetaminophen, 5-aminosalicylic acid or tetracycline., Pharmazie,69,1-4. (2014).

<学会発表>

【2018 年度】

1. 日本薬学会第 139 年会(千葉県千葉市、2019 年 3 月 22 日)「金ナノ粒子の薬物相互作用による傷害性の検討」磯田 勝広、越後谷 美幸、田中 杏樹、藤盛 千咲、木下 結賀、佐藤 梨花子、平裕一郎、平 郁子、清水芳実、石田 功

2. Katsuhiko Isoda, Takeshi Nozawa, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Isao Ishida. Acute hepatic injury and renal injury of 50nm-polystyrene nanoparticles with cisplatin or paraquat in mice are reduced to surface charge and palladium. 9th International Conference on Nanotoxicology, 2018, 18. - 21. September, Neuss, Germany

3. 第 62 回日本薬学会関東支部大会(東京都中野区、2018 年 9 月 15 日)「金ナノ粒子は薬物相互作用により急性腎傷害を誘導する」田中 杏樹、磯田 勝広、平 裕一郎、平 郁子、石田 功

4. 第 62 回日本薬学会関東支部大会(東京都中野区、2018 年 9 月 15 日)「HepG2 細胞とマウスに対する金ナノ粒子の安全性の検討」藤盛千咲, 磯田勝広, 越後谷美幸, 平裕一郎, 平郁子, 石田功

【2017 年度】

5. Katsuhiko Isoda, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida., Influence of nanoclay particles on hepatotoxicity and drug interaction toxicity in mice. 53th-Congress of the European Societies of Toxicology, September, 2017, Bratislava, Slovakia 11<sup>th</sup>-13<sup>th</sup> September.

6. 第 61 回日本薬学会関東支部大会(東京都港区、2017 年 9 月 16 日)「PVP 修飾銀ナノ粒子の安全性評価と薬物相互作用」小野 壮平、望月 優摩、磯田 勝広、平 裕一郎、平 郁子、石田 功

7. 第 10 回中野医療フォーラム(東京都中野区、2017 年 10 月 22 日)「ナノ白金粒子の安全性評価と薬物相互作用」磯田勝広(招待講演)

【2016 年度】

8. 日本薬学会第 138 年会(石川県金沢市、2017 年 3 月 26 日)「PVP 修飾銀ナノ粒子の医薬品に対する安全性に関する検討」望月 優摩、小野 壮平、磯田 勝広、平 裕一郎、平 郁子、石田 功

9. Katsuhiko Isoda, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida. Acute hepatotoxicity, nephrotoxicity, and drug/chemical interaction toxicity of platinum nanoparticles in mice. 11th International Particle Toxicology, September 28<sup>th</sup>-30<sup>th</sup>, 2016, Singapore

【2015 年度】

10. 日本薬学会第 137 年会、宮城県仙台市(2016 年 3 月 25、26、27 日)「粒子径による銀ナノ粒子の傷害性と薬物相互作用に関する検討」青木幸菜、磯田勝広、上田舞子、小林直樹、平郁子、平裕一郎、石田功

11. Katsuhiko Isoda, Yoshimi Shimizu, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida. Influence of polystyrene nanoparticles in inducing cytotoxicity in mice co-injected anti-inflammatory agent, tetracycline or sodium valproate. 51th-Congress of the European Societies of Toxicology, September, 2015, Porto, Portugal 13<sup>th</sup>-16<sup>th</sup> September.

11. 日本薬学会第 135 年会(兵庫県神戸市、2015 年 3 月 26、27、28 日)「ナノクレイ粒子の安全性に関する検討」大塚杏菜、磯田勝広、永田隆太郎、油科香里、長谷川知也、石田功

12. 日本薬学会第 135 年会(兵庫県神戸市、2015 年 3 月 26、27、28 日)「ナノ白金粒子と医薬品成分・化学物質の相互作用に関する検討」大坊萌美、磯田勝広、油科香里、長谷川知也、吉岡靖雄、堤康

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

央、石田功

13. 第 42 回日本毒性学会学術年会(石川県金沢市、2015 年 6 月 29、30 日、7 月 1 日)「ナノ白金粒子の単回投与毒性と薬物相互作用の検討」磯田勝広、大坊萌美、油科香里、平裕一郎、平郁子、吉岡靖雄、堤康央、石田功

【2014 年度】

14. 日本薬学会第 136 年会(神奈川県横浜市、2015 年 3 月 6、27、28 日)「ナノ白金粒子の単回投与毒性と薬物相互作用の検討」小林尚樹、磯田勝広、長谷川知也、秋元義弘、平裕一郎、平郁子、石田功

15. フォーラム 2014 衛生薬学・環境トキシコロジー(茨城県つくば市、2014 年 9 月 19、20 日)「ナノクレイの安全性に関する研究」永田隆太郎、磯田勝広、大塚杏菜、長谷川知也、石田功

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

なし

<「選定時」に付された留意事項への対応>

なし

<「中間評価時」に付された留意事項>

なし

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

なし

法人番号	131148
プロジェクト番号	S1411026

16

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備 考
		法 人 担 負	私 学 助 成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他( )	
平成二十六年度	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	10,390	4,027	6,363	0	0	0	
	研究費	28,159	16,503	11,656	0	0	0	
平成二十七年度	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	12,873	4,292	8,581	0	0	0	
	研究費	29,250	17,465	11,785	0	0	0	
平成二十八年度	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	0	0	0	0	0	0	
	研究費	34,360	19,263	15,097	0	0	0	
平成二十九年度	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	0	0	0	0	0	0	
	研究費	42,349	24,150	18,199	0	0	0	
平成三十年度	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	0	0	0	0	0	0	
	研究費	42,317	23,817	18,500	0	0	0	
総 額	施設	0	0	0	0	0	0	
	装置	0	0	0	0	0	0	
	設備	23,263	8,319	14,944	0	0	0	
	研究費	176,435	101,198	75,237	0	0	0	
総 計	199,698	109,517	90,181	0	0	0		

法人番号

131148

17

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
該当なし							

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m<sup>2</sup>

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置) 該当なし				h h h h h			
(研究設備) Profinia タンパク質精製システムと Experion 自動電気泳動システム	平成26年度	620-1012JAEXP	1	500 h	5,151	3,178	私学助成
BACTRON IV (嫌気性チャンバー)	平成26年度	バクトロン600 BAC4-STAND	1	500 h	5,239	3,185	私学助成
全自動ELISAマイクロプレートプロセッサ	平成27年度	9162250000	1	100 h	7,161	4,774	私学助成
AKTA pure 25 L1(組換えタンパク質精製システム)	平成27年度	F9-C(PCセットを含む:Desktop)	1	72 h	5,711	3,807	私学助成
(情報処理関係設備) 該当なし				h h h h h			

法人番号

131148

## 18 研究費の支出状況

(千円)

年度	平成 26 年度	(研究テーマ1)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	10,745	血清 ろ過実験器具 その他	1,458 615 8,672	Hyclone Laboratories SH30070.03E × 50 自動圧力調整弁 × 1,透過液流量計 × 1
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	140	学会出張 研究打ち合せ その他	81 58 1	日本薬学会第135年会 大阪大学研究打ち合せ
報酬・委託料	2,750	人工遺伝子合成 人工遺伝子合成 その他	859 403 1,488	人工遺伝子合成(846bp・846bp・1962bp・1962bp・756bp・1872b) × 1・指定へター(pKKT427) × 6 人工遺伝子合成(2370bp・2346bp) × 2・指定へター(pKKT427) × 2
(アルバカ飼育費)	2,149	アルバカ飼育費	2,149	アルバカ飼育・研究試料採取
計	15,784			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	0			
教育研究経費支出	0			
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	1,187	タンパク質濃縮器	1,187	KrosFlo Research II i System(SYR2-U20-01N) × 1式
図書	0			
計	1,187			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	1,961	IVISを用いた抗腫瘍効果の測定等	1,961	学内1人、学外0人、外国0人、学振0人
研究支援推進経費	0			
計	1,961			学内1人、学外0人、外国0人、学振0人

年度	平成 26 年度	(研究テーマ2)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	6,311	遠心機部品 実験用マウス その他	1,681 502 4,127	T8A317726R-3 × 3・T15A417726R-3 × 1・スイングローター × 1・15TA507727 × 16・13A507727 × 4 JAXマウスC57BL/6J-Apc Min J 雄7週齢 × 4
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	110	学会出張 特別研究員交通費 その他	77 11 22	日本薬学会第135年会 特別研究員交通費
報酬・委託料	744	人工遺伝子合成 人工遺伝子合成 その他	326 293 125	人工遺伝子合成(1204bp・1198bp・1186bp) × 1 人工遺伝子合成(609bp) × 3
( )	0			
計	7,165			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	558	データ入力、データ解析	558	時給 1,000円、年間時間数 476時間 実人数 1人
教育研究経費支出	0			
計	558			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	1,498	リアルタイムPCR	1,498	リアルタイム定量PCRシステムMx3000P × 1
図書	0			
計	1,498			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

法人番号

131148

年度		平成 27 年度 (研究テーマ1)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	8,747	ろ過システム部品	1,649	MBT001-5L-S MBTバックシステム特注品10セット
		ろ過システム部品	394	mPES KrosFlo モジュール K02-E20U-10-S × 2
		その他	6,704	
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	151	学会出張	82	第62回日本実験動物学会総会
		学会出張	64	第42回日本毒性学会学術年会
		その他	5	
報酬・委託料	3,296	人工遺伝子合成	547	人工遺伝子合成(4587bp・4569bp) × 2・標準ベクター(pUC18) × 2
		人工遺伝子合成	302	人工遺伝子合成(2024bp・990bp) × 2・指定ベクター(pKKT427) × 2
		その他	2,447	
(アルバカ飼育費)	480	アルバカ飼育費	480	アルバカ飼育・研究試料採取
(学会参加費)	43	学会参加費	20	第31回日本DDS学会学術集会参加費
		学会参加費	14	第62回日本実験動物学会総会参加費
		その他	9	
計	12,717			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	0			
教育研究経費支出	0			
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	0			
図 書	0			
計	0			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	3,942	IVISを用いた抗腫瘍効果の測定等	3,942	学内1人、学外0人、外国0人、学振0人
研究支援推進経費	0			
計	3,942			学内1人、学外0人、外国0人、学振0人

年度		平成 27 年度 (研究テーマ2)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	6,944	電子天びん他	615	電子天びんXS105DUV × 1,他
		実験用マウス	309	SPFマウス(KNS/Slc6週齢 ♀) × 80
		その他	6,020	
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	28	特別研究員交通費	9	特別研究員交通費
		特別研究員交通費	3	特別研究員交通費
		その他	16	
報酬・委託料	1,168	タンパク質発現	355	タンパク質受託発現サービスBreviMAX standard
		人工遺伝子合成	194	人工遺伝子合成(1563bp・1566bp) × 1
		その他	619	
( )	0			
計	8,140			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	1,172	データ入力、データ解析	1,172	時給 1,000円、年間時間数 985時間 実人数 1人
教育研究経費支出	0			
計	1,172			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	3,274	細胞破碎機	1,143	MICROSMASH MS-100R × 1等
		実体顕微鏡システム	798	研究用高級実体顕微鏡システム透過LED照明付SZX16-3151 × 1
		その他	1,332	
図 書	0			
計	3,274			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

法人番号

131148

年度		平成 28 年度 (研究テーマ1)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	13,848	抗体 実験用マウス その他	515 374 12,959	抗体 inVivo Plus anti-mouse PD-L1 BP2101 × 1 ヌートマウス♀6週齢 × 80, マウス♀6週齢 × 40
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	185	学会出張 学会出張 その他	64 58 63	第43回日本毒性学会学術年会 第20回日本がん免疫学会総会
報酬・委託料	4,584	抗血清の抗原特異的精製他 人工遺伝子合成 その他	499 268 3,817	抗血清の抗原特異的精製、ELISA測定、HRP標識 人工遺伝子合成(137bp・1323bp) × 2・指定ベクター(pKKT427) × 2
(アルバカ飼育費)	822	アルバカ飼育費	822	アルバカ飼育・研究試料採取
(学会参加費)	52	学会参加費 学会参加費 その他	30 11 11	第75回日本癌学会学術総会参加費 日本薬学会第137年会参加費
計	19,491			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	0			
教育研究経費支出	0			
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	0			
図 書	133	研究図書 研究図書 その他	76 49 8	革新的医薬品 審査のポイント,他1冊 抗体薬物複合体(ADC)の設計開発
計	133			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

年度		平成 28 年度 (研究テーマ2)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	5,633	試薬 試薬 その他	363 346 4,924	EGFR(Myc-DDK-tagged)variant 1 10 μg RC217384 × 1 ULTRA Tablets, Mini, EASYpack × 5,他
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	31	特別研究員交通費	31	特別研究員交通費
報酬・委託料	2,642	研究補助派遣 研究補助派遣 その他	626 610 1,406	組換えピフィズス菌を担体とする医薬品開発補助 組換えピフィズス菌を担体とする医薬品開発補助
( )	0			
計	8,306			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	1,429	データ入力、データ解析	1,429	時給 1,100円, 年間時間数 1,032時間 実人数 1人
教育研究経費支出	0			
計	1,429			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	4,995	オールインワン蛍光顕微鏡	4,995	オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X700 × 1
図 書	0			
計	4,995			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			



法人番号

131148

年度		平成 29 年度 (研究テーマ1)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	17,591	血清 交換モジュール その他	1,354 583 15,654	Fetal bovine serum defined AC10251184×15 ネッパゾーントランスジェネレーターモジュール1.0MHz×2
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	152	学会出張 学会出張 その他	60 46 46	日本薬学会第138年会 第40回日本分子生物学会年会
報酬・委託料	3,159	研究補助派遣 研究補助派遣 その他	209 200 2,749	細菌および培養細胞の維持管理等 細菌および培養細胞の維持管理等
(学会参加費)	29	学会参加費 学会参加費 その他	12 12 5	日本薬学会第138年会参加費 日本薬学会第138年会参加費
計	20,931			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	0			
教育研究経費支出	0			
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	2,575	細胞測定実験機器 発光計測装置 その他	1,020 952 602	ネッパゾーンソニトロンGTS×1 AB-2270-RLミネンセンサーOcta×1
図 書	0			
計	2,575			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

年度		平成 29 年度 (研究テーマ2)		
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	9,242	血清 実験器具 その他	1,534 882 6,824	Fetal bovine serum defined SH30070.03×17 Sterivex-GPフィルター0.22μm×4,他
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	127	出張 特別研究員交通費 その他	85 36 5	研究報告会参加 特別研究員交通費
報酬・委託料	349	人工遺伝子合成 人工遺伝子合成 その他	144 133 71	ユ-ロフィン遺伝子合成eCARL807(1144bp)×1,他 ユ-ロフィンハリー-遺伝子 646Bp×1,775Bp×1
(アルバカ飼育費)	137	アルバカ飼育費	137	アルバカ飼育・研究試料採取
(会議費)	30	成果報告会	30	成果報告会開催費
計	9,885			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	1,647	データ入力、データ解析	1,647	時給 1,100円, 年間時間数 1,133時間 実人数 1人
教育研究経費支出	0			
計	1,647			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	7,306	遺伝子導入機器 発光計測システム	4,050 3,256	ネッパゾーンジェンカンステム GDS80A×1 アト-AB-2550クロノディオシステム×1式
図 書	0			
計	7,306			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

法人番号

131148

年度	平成 30 年度 (研究テーマ1)			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	14,654	実験器具 試薬 その他	491 447 13,715	コーニング スピナーフラスコ 4500-125×2,他 BioRad 脱塩サンフルーフ ×1,他
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	33	論文別刷	23	Y17-00220-4別刷×100部,表紙×50部
旅費交通費	254	論文別刷	10	Y17-00220-F論文別刷リ×50部,表紙×50部
		学会出張	193	Experimental Biology2018大会
報酬・委託料	4,100	学会出張	61	第45回日本毒性学会学術年会
		修繕費	299	ハ'外ロ600修理×一式
		研究補助派遣	201	細菌および培養細胞の維持管理等
(学会参加費)	70	その他	3,599	
計	19,111	学会参加費	70	EB2018 参加費
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	0			
教育研究経費支出 計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	1,998	細胞破碎装置 細胞解析装置	999 999	フナシ FastPrep-24 5G 6005-500×1,CoolTeenPrep 6002-530×1 リテニー gentleMACS dissociator×1
図 書	0			
計	1,998			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

年度	平成 30 年度 (研究テーマ2)			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	12,930	試薬 実験昆虫用飼料 その他	1,166 975 10,788	bioXcell BE0101(B7-H1)×1,他 日本農産工業 シルクメイト2S×5,他
光熱水費	0			
通信運搬費	70	実験動物輸送費	70	トランスジェニック 遺伝子組み換えマウス輸送 一式
印刷製本費	0			
旅費交通費	13	特別研究員交通費	13	特別研究員交通費
報酬・委託料	5,871	実験作業委託	1,944	相同組換え法によるB2M遺伝子ノックインマウス作製,他
		実験作業委託	1,436	組換えタンパク質の大量精製×1
		その他	2,490	
( )	0			
計	18,884			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	1,740	データ入力、データ解析	1,740	時給 1,100円, 年間時間数 1,214時間 実人数 1人
教育研究経費支出 計	1,740			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	579	インキュベーター	579	PHC インキュベーター(MIR-254-PJ)×1
図 書	0			
計	579			
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			