

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：13802  
 研究種目：基盤研究(C) (一般)  
 研究期間：2015～2017  
 課題番号：15K07896  
 研究課題名(和文) 標的/酵素特異性ハイブリッド型近赤外蛍光イメージング製剤の開発とがん診断への応用  
  
 研究課題名(英文) Development of tumor-targetable, enzyme-specific activatable fluorescent probe for early diagnosis of tumor  
  
 研究代表者  
 清水 広介 (Shimizu, Kosuke)  
  
 浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・准教授  
  
 研究者番号：30423841  
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：がんの簡便かつ早期診断法確立のため、アクチベータブル蛍光プローブにリポソームDDS技術を導入した新規近赤外蛍光イメージング製剤を作製した。実際には、リソソーム内タンパク質分解酵素カテプシンBによる酵素特異的切断を受けて蛍光特性を示す近赤外蛍光アクチベータブルプローブ(P-ICG2)を、マクロファージ標的性を有するホスファチジルセリン修飾リポソームに内封した製剤(P-ICG2-PS-Lip)を調製した。P-ICG2-PS-Lipはマウスマクロファージ様RAW264細胞内にて特異的に蛍光を発生し、KLN 205固形がん担がんマウスを用いた検討では、固形がんの近赤外蛍光イメージングに成功した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to develop a novel near-infrared activatable fluorescent probe which enables to target macrophages in tumor tissues for early diagnosis of tumor. First, I synthesized an activatable fluorescent probe (P-ICG2) which show the near-infrared fluorescent property only after the lysosomal cathepsin B enzymatically cleaves the peptide chain in the probe. On the other hand, to deliver the probe to tumor tissue effectively, I also prepared PS-modified liposomes which can target macrophages infiltrating into tumor tissues. Then, I encapsulated P-ICG2 into the liposomes and developed a macrophage-targetable, enzyme-specific activatable fluorescent probe (P-ICG2-PS-Lip). P-ICG2-PS-Lip showed the fluorescence in lysosomes of mouse macrophage-like RAW264 cells after taking up into the cells. Furthermore, optical imaging of the solid tumor was succeeded, when P-ICG2-PS-Lip was intravenously injected to KLN205 tumor-bearing mouse and the fluorescence imaging was performed.

研究分野：薬物送達学

キーワード：がんイメージング リポソーム アクチベータブル蛍光プローブ マクロファージ DDS カテプシンB  
 ホスファチジルセリン

### 1. 研究開始当初の背景

がんは依然として難治性疾患であることに変わりはなく、超高齢社会を迎え、がんによる死亡は今後も増加の一途を辿ることが予想される。がんの外科的手術やがん化学療法の適用には、早期発見・早期治療が必須である。近年の画像診断技術や医療機器技術の発達により、X線CT、MRIなどによる臓器の形態学的変化から疾患を予測する診断法が普及し、がんの検出が以前に比べて飛躍的に発展した。しかし診断を行う医師の技量に依存することが多く、また形態学的変化を捉える点から、ある程度病態が進行した状態での検出となり、がんの早期診断という点からすると限界がある。またポジトロン断層法 (PET) などの放射線の検出を利用した分子イメージングについては、臓器の機能的変化を画像化する手法であるため、検出感度については十分であるが、サイクロトロンを含む大型設備が必要なことや被曝のリスクなどから、一次スクリーニングとしては不向きな点が多い。本研究は、簡便性、正確性、検出特異性、安全性、汎用性が求められるイメージング技術として、近赤外蛍光イメージングに着目した。本研究では、標的化 DDS 技術とアクチベータブル蛍光イメージング技術の融合による革新的な光イメージングがん診断法が確立できると考え、本研究の着想に至った。

### 2. 研究の目的

本研究はがんの早期発見に向けた新たな試みとして、蛍光プローブのがん組織への効率的な送達と細胞内酵素に依存した蛍光発光という2つの特性を兼ね備えた近赤外蛍光イメージング製剤を新たに開発し、がん診断に応用することを目的とする。

### 3. 研究の方法

【アクチベータブル近赤外蛍光プローブの合成と酵素特異的蛍光発光】

(1) アクチベータブル蛍光プローブの合成  
リソソーム内タンパク質分解酵素であるカテプシン B により特異的なペプチド鎖切断を受け、近赤外蛍光を発するアクチベータブルプローブ (P-ICG2) の合成を行なった。合成は、インドシアニングリーン (ICG) 誘導体である ICG-Sulfo-OSu とカテプシン B の基質となるペプチド (Ac-KGGGFLGK-OH) を室温にて反応させ得た。その後、マスマスペクトル (MS-ESI) により合成品の分子量の確認を行なった。得られたプローブについては逆相クロマトグラフィーにより精製を行なった。

(2) P-ICG2 のカテプシン B による蛍光発光  
まず、P-ICG2 の自己消光を確認するために、蛍光光度計によりその蛍光強度について ICG と比較を行なった。次に P-ICG2 にカテプシン B を添加した後の蛍光強度の変化について測定を行なった。さらに、カテプシン B 阻害剤である CA-074ME 存在下、マクロファージ様 RAW264 細胞における P-ICG2 の蛍光強度の測定を行なった。

【P-ICG2 封入リポソームの調製】

### (1) P-ICG2 封入リポソームの調製

ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) およびコレステロール (Cho) の脂質組成比が 2 : 1 からなるリポソームに P-ICG2 を封入した。封入方法には、リポソーム内外の pH 勾配差を利用したリモートローディング法を利用した。実際には、酢酸カルシウム溶液を用いて単純リポソームをまず調製し、エクストルーダーにより 100 nm 孔径のフィルターに通すことでリポソームサイズの調整を行った。透析を行うことでリポソーム外水相の溶媒置換を行った後、P-ICG2 溶液を加えることで、リポソーム内に P-ICG2 を封入した。超遠心操作を行うことで未封入の P-ICG2 を除去し、P-ICG2 封入リポソーム (P-ICG2-Lip) を得た。得られたリポソームについて、粒度分布計により粒子径およびゼータ電位を測定した。また透過型電子顕微鏡を用いてリポソームの観察を行った。

### (2) P-ICG2-Lip の安定性評価

調製した P-ICG2-Lip を、90% ウシ胎児血清 (FBS) 中 37°C で混合し、その後の粒子径変化について確認を行った。さらに、ゲルろ過クロマトグラフィーによりリポソーム画分と血清タンパク質画分に分離し、各フラクションの蛍光強度 (1% TritonX-100 存在下) を測定することで、P-ICG2-Lip の血清における封入安定性を評価した。また 90% FBS にて混合した後、経時的に蛍光強度を測定することで、血清中での自己消光状態の安定性を評価した。

【P-ICG2-Lip のがん細胞中の蛍光強度変化】

### (1) 各種細胞におけるカテプシン B の発現

マウスマクロファージ様 RAW264 細胞株、ヒト大腸がん HT-29 細胞株、ヒト膵管がん SUIT-2 細胞株、ヒト肺がん A549 細胞株、ヒト線維芽肉腫 HT1080 細胞株、ヒト前立腺がん DU145 細胞株を用い、カテプシン B の発現をリアルタイム RT-PCR により解析を行った。

### (2) P-ICG2-Lip のがん細胞中の蛍光変化

HT1080 細胞および A549 細胞における P-ICG2-Lip の蛍光変化について解析を行った。各細胞を 96 穴プレートに播種し (1 x 10<sup>4</sup> cells/well)、一晚培養した後 DPPC 濃度として 2 mM となるように P-ICG2-Lip を添加した。37°C でインキュベートを行い、1、3、6、24 時間後に ICG の蛍光強度 (Ex. 800 nm, Em. 845 nm) を測定した。

### (3) 標的化リポソームのがん細胞への標的性

がん細胞表面に多く発現するとして知られるアミノペプチダーゼ N を標的可能なペプチド (GNRG) を用いて、がん細胞へのリポソームの標的化を試みた。HT1080 細胞を 24 穴プレートに播種し (2 x 10<sup>4</sup> cells/well)、一晚培養した後 DiIC<sub>18</sub> で蛍光標識したポリエチレングリコール (PEG) 修飾リポソーム (DPPC : Cho : MPEG-DSPE(2,000) = 2 : 1 : 0.2)、PEG/NGR 修飾リポソーム (DPPC : Cho : GNRG-PEG-DSPE(2,000) : MPEG-DSPE(2,000) = 2 : 1 : 0.1 : 0.1)、NGR 修飾リ

ポソーム (DPPC : Cho : GNGRG-PEG-DSPE(2,000)=2 : 1 : 0.2) を添加し、37°Cで3、12、24 時間インキュベートした後に細胞を洗浄し、細胞を可溶化後 DiI の蛍光強度 (Ex. 549 nm、Em. 592 nm) を測定した。

#### 【肺がんマウスにおけるがんイメージング】

ルシフェラーゼ遺伝子を恒常的に発現したヒト肺がん A549 細胞株 (A549-Luc) を BALB/c スードマウスに尾静脈内投与し (5 x 10<sup>6</sup> cells/mouse)、同所移植肺がんモデルマウスを作製した。移植から 49 日目に、D-ルシフェリン (Promega, 3 mg/mouse) を腹腔内投与して、IVIS Lumina (PerkinElmer) を用いた化学発光イメージングにより肺におけるがんの生着を確認した。その後 P-ICG2-Lip を尾静脈内投与し (ICG 投与量として 0.67 µg/mouse)、5、10、30 分、1、3、6、12、24 時間後に IVIS Lumina を用いて ICG のインビボ全身蛍光イメージングを行った。また投与 24 時間後には、マウスより血液、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、消化管を採取し、エクスピボ蛍光イメージングにより各臓器における ICG の蛍光を撮像した。

#### 【PS 修飾リポソームへの P-ICG2 の封入】

(1) マクロファージ標的化リポソームの RAW 264 細胞への標的性

DiIC<sub>18</sub> で蛍光標識した PC リポソーム (DPPC : Cho=2 : 1)、マクロファージ標的化ホスファチジルセリン (PS) 修飾リポソーム (PS リポソーム、DPPC : ジパルミトイルホスファチジルセリン (DPPS) : Cho=1 : 1 : 1)、負電荷リポソーム (PG リポソーム、DPPC : (ジパルミトイルホスファチジルグリセロール) DPPG : Cho=1 : 1 : 1) を調製した。24 穴プレートに播種した RAW264 細胞 (2 x 10<sup>4</sup> cells/well) に各リポソームを添加し、37°Cで1、3、6、24 時間インキュベートした後に細胞を洗浄し、細胞を可溶化後 DiI の蛍光強度を測定した。

(2) PS 修飾 P-ICG2 封入リポソームの調製  
酢酸ナトリウム溶液を用いて DPPS リポソーム (DPPC : DPPS : Cho=1 : 1 : 1) をまず調製し、エクストルーダーにより 100 nm 孔径のフィルターに通すことでリポソームサイズの調整を行った。透析を行うことでリポソーム外水相の溶媒置換を行った後、P-ICG2 溶液を加えることで、リポソーム内に P-ICG2 を封入した。超遠心操作を行うことで、未封入の P-ICG2 を除去し、P-ICG2 封入 PS 修飾リポソーム (P-ICG2-PS-Lip) を得た。得られたリポソームについて、粒度分布計により粒子径等の測定を行った。また透過型電子顕微鏡を用いてリポソームの観察を行った。

(3) P-ICG2-PS-Lip の RAW264 細胞における蛍光発光

96 穴プレートに RAW264 細胞を播種し (1 x 10<sup>4</sup> cells/well)、一晚培養した後 P-ICG2-PS-Lip を P-ICG2 濃度として 0.28、0.55、1.1 µM となるように加えた。37°Cでインキュベートを行い、1、3、6、24 時間後に ICG の蛍

光 (Ex. 750 nm、Em. 845 nm) を測定した。

(4) P-ICG2-PS-Lip のマクロファージ標的性解析

RAW264 細胞とマウス内皮細胞 2H-11 細胞をそれぞれ 1.5 x 10<sup>4</sup> cells/well となるように混和し、4 穴スライドグラスに播種した。ICG 量として 0.15 µg/mL となるように P-ICG2 または P-ICG2-PS-Lip を培地に加えた。リポソーム添加 6 時間後に培養上清を除去し、PBS で洗浄した後、蛍光顕微鏡を用いて ICG の蛍光観察を行った。

(5) ICG 由来蛍光の細胞内局在観察

RAW264 細胞を、1.5 x 10<sup>4</sup> cells/well となるように 4 穴スライドグラスに播種した。次に ICG 量として 0.15 µg/mL となるように P-ICG2-PS-Lip を培地に加えた。リポソーム添加 4 時間後に培養上清を除去し、リソソーム染色試薬 LysoTracker® Green DND-26 を 0.07 µM となるように加え染色した。その後、蛍光顕微鏡を用いて観察を行った。

#### 【担がんマウスにおけるがんイメージング】

マウス結腸がん Colon 26 NL-17 およびマウス扁平上皮がん KLN205 固形がん担がんマウスに P-ICG2-PS-Lip を尾静脈内投与し、15、30 分、1、3、6、9、24 時間後にそれぞれ ICG の蛍光を IVIS Lumina を用いて撮像した。さらに投与 24 時間後にはそれぞれのマウスから固形がんを摘出し、そのエクスピボ蛍光イメージングを行った。

## 4. 研究成果

### 【P-ICG2-Lip の調製とその蛍光特性】

(1) P-ICG2 の合成

ICG-Sulfo-Osu と Ac-KGGGFLGK-OH を反応させることで、Peptide-ICG2 (P-ICG2) を合成した。マススペクトル解析の結果から、P-ICG2 の分子量に相当する部位に高いピークが得られたため、目的の化合物ができていることを確認した (図 1)。

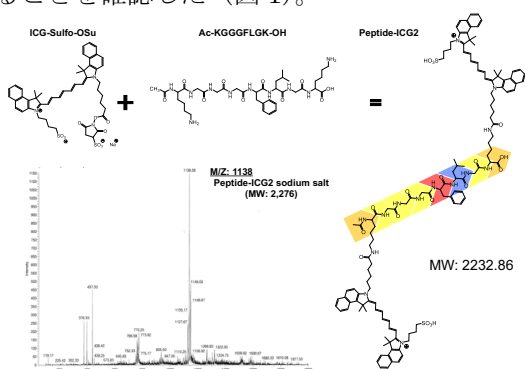


図 1 Peptide-ICG2 (P-ICG2) の合成

(2) P-ICG2 のカテプシン B による蛍光発光

P-ICG2 はカテプシン B によるペプチド鎖の切断を受けることにより、初めて ICG の近赤外蛍光を発するアクチベータブル蛍光プローブとして設計した。そこでまず、通常状態における P-ICG2 の消光の確認を行った。結果、ICG 単独では高い蛍光を示した濃度において、同じ ICG 濃度の P-ICG2 では蛍光特性

が抑制されていることが明らかとなった (図 2A)。次に、P-ICG2 にカテプシン B を添加してその後の蛍光強度変化を調べたところ、カテプシン B 濃度依存的に ICG2 の蛍光強度が高くなることが確認された (図 2B)。さらにカテプシン B 阻害剤 CA-074Me を用いて RAW264 細胞における蛍光特性を調べたところ、CA-074Me の処理により蛍光強度が低下することが示された (図 2C)。

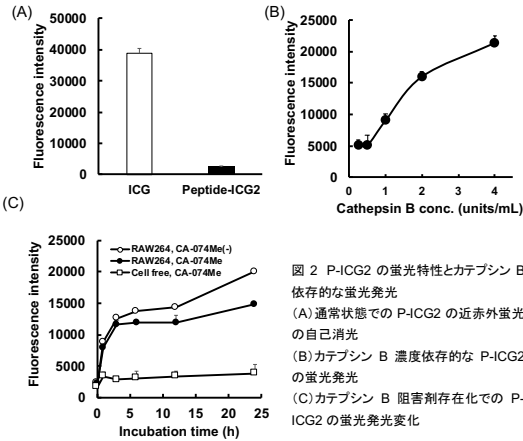


図 2 P-ICG2 の蛍光特性とカテプシン B 依存的な蛍光発光  
(A) 通常状態での P-ICG2 の近赤外蛍光の自己消光  
(B) カテプシン B 濃度依存的な P-ICG2 の蛍光発光  
(C) カテプシン B 阻害剤存在化での P-ICG2 の蛍光発光変化

### 【P-ICG2 封入リポソームの調製】

#### (1) P-ICG2 封入リポソームの調製

DPPC リポソーム内に、P-ICG2 を封入した。この結果、平均粒子径が 140 nm 程度、P-ICG2 の封入率 60% 程度のリポソームが調製でき (図 3)、さらに蛍光発光の指標となる蛍光アクチベーション能力 (1% TritonX-100 存在下、非存在下の蛍光強度から算出) は 15 倍となり、リポソーム内封後もアクチベータブル蛍光プローブとしての特性を維持していることが示された (表 1)。

表 1 P-ICG2-Lip の物性

Particle size (nm)	139 ± 11
PDI	0.211 ± 0.068
ζ-Potential (mV)	-3.5 ± 0.4
Recovery (%)	57.9 ± 14
Activation potential (FL of 1% Triton / Buffer)	15.0 ± 8.0

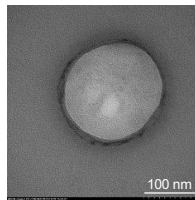


図 3 P-ICG2-Lip の電顕写真

#### (2) P-ICG2-Lip の安定性評価

調製した P-ICG2-Lip の安定性を調べるために、FBS 中での凝集を確認したところ、FBS 存在下においても P-ICG2-Lip の凝集は確認されず、長期的に分散することが示された (図 4A)。また P-ICG2 がリポソーム内に安定的に保持されるかどうか調べるために、FBS との混和後にリポソーム画分と血清タンパク質画分に分離し、P-ICG2 の蛍光を測定したところ、P-ICG2 の蛍光はリポソーム画分にほとんど確認され、生体内においてもリポソームは安定であることが示された (図 4B)。さらに血清タンパク質による自己消光解除の可能性についても検討を行ったところ、リポソーム化していない P-ICG2 は血清と混和後速やかに蛍光発光が誘導されたのに対し、P-ICG2-Lip の蛍光は血清混和前後でほとんど変化がなかった (図 4C)。

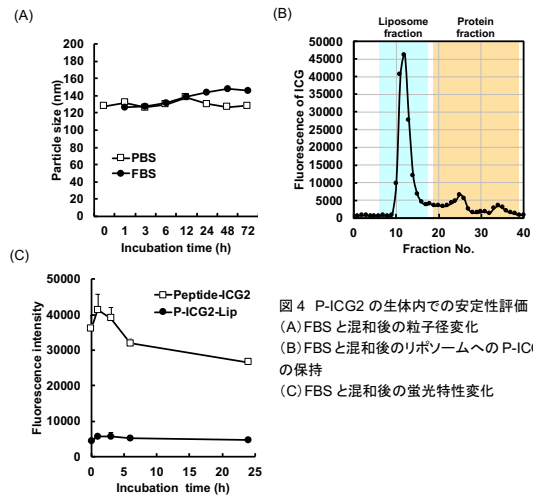


図 4 P-ICG2 の生体内での安定性評価  
(A) FBS と混和後の粒子径変化  
(B) FBS と混和後のリポソームへの P-ICG2 の保持  
(C) FBS と混和後の蛍光特性変化

### 【P-ICG2-Lip のがん細胞中の蛍光強度変化】

(1) 各種細胞におけるカテプシン B の発現  
カテプシン B の発現が高いがん細胞を選別するために、リアルタイム RT-PCR により各種がん細胞における

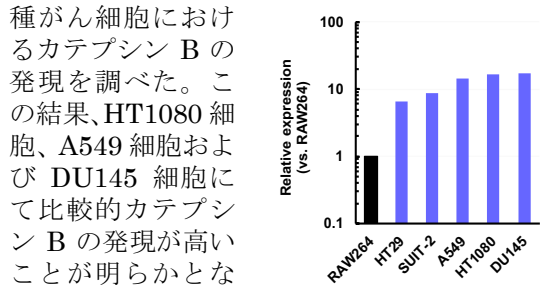


図 5 各種細胞におけるカテプシン B の発現

#### (2) P-ICG2-Lip のがん細胞中の蛍光変化

カテプシン B の発現が高かった HT1080 細胞および A549 細胞を用いて、P-ICG2-Lip を添加した際の蛍光強度変化を調べた。両細胞ともに添加後において ICG 由来の蛍光強度が高くなり、また細胞非存在下に対しても蛍光強度が高い結果を得ることができた。一方で対照として行ったマウスマクロファージ様細胞である RAW264 細胞においては、蛍光強度の上昇ががん細胞に比べて非常に高くなることも同時に示された (図 6)。

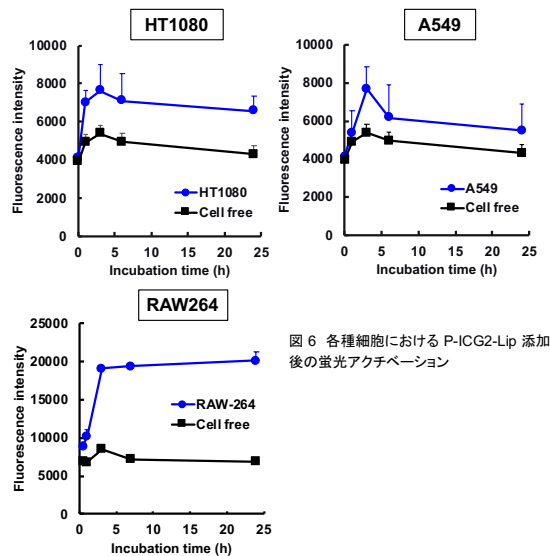


図 6 各種細胞における P-ICG2-Lip 添加後の蛍光アクチベーション

(3) 標的化リポソームのがん細胞への標的性リポソームのがん細胞への標的化に向け、アミノペプチダーゼ N を標的可能な NGR ペプチドをがん標的化プローブとして用い、HT1080 細胞へのリポソームの取り込みを確認した。この結果、長期血中滞留性の PEG 修飾リポソームに比べ、NGR 修飾リポソームはがん細胞への取り込みが約 2 倍程度高くなることが示された (図 7)。一方で NGR リポソームへの P-ICG2 の封入を試みたが、封入操作の過程でリポソームの著しい凝集が確認されたため、残念ながら NGR 修飾リポソームを用いての P-ICG2 の封入は断念した。

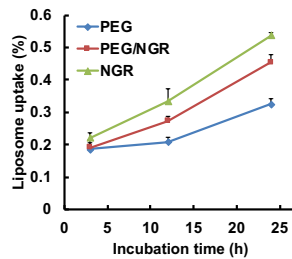


図 7 NGR 修飾リポソームのがん標的性

### 【肺がんマウスにおけるがんイメージング】

ルシフェラーゼを恒常的に発現する A549 細胞を用いて、肺転移がんモデルを作製した。担がんマウスに D-ルシフェリン投与を投与し、発光イメージングを行うことでがんの生着を確認し、移植から 49 日目に P-ICG2-Lip の蛍光イメージングを行った。結果として、がん組織が存在する肺においては ICG の蛍光は確認できず、本プローブでのがんのイメージングは厳しいものとなった (図 8A)。実際各臓器を摘出して、同様に蛍光イメージングを行ったが、肺における蛍光は非常に低い結果となった (図 8B)。

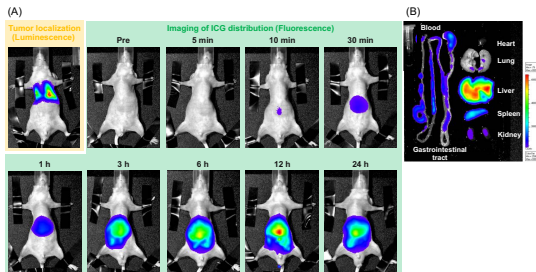


図 8 P-ICG2-Lip の A549 肺がんモデルマウスにおける近赤外蛍光イメージング

### 【PS 修飾リポソームへの P-ICG2 の封入】

(1) マクロファージ標的化リポソームの RAW 264 細胞への標的性

PS を含有するリポソームがマクロファージ標的性を有していることは古くから知られている。そこでがん組織内に浸潤したマクロファージを標的とする近赤外蛍光プローブ開発に向けて、まず PS 修飾リポソームの RAW264 細胞への取り込みについて、対照リポソーム(PC リポソームおよび PG リポソーム)と比較

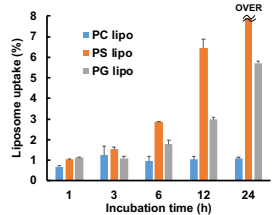


図 9 PS 修飾リポソームのマクロファージ標的性

検討した。その結果、PS を含まない PC リポソームや PS 修飾リポソームと同様に負電荷を帯びている PG リポソームに比べ、PS 修飾リポソームは RAW264 細胞に有意に取り込まれることが明らかとなった。

(2) マクロファージ標的化 P-ICG2 封入リポソームの調製

リポソーム内外の pH 勾配差を利用したリモートローディング法により、DPPS を含有するリポソーム内に、P-ICG2 を封入した。この結果、平均粒子径が 180 nm 程度、P-ICG2 の封入率 75% 程度のリポソームが調製でき (図 10)、さらに蛍光発光の指標となる蛍光アクチベーション能力 (1% TritonX-100 存在下、非存在下の蛍光強度から算出) は約 19 倍となり、リポソーム内封後もアクチベータブル蛍光プローブとしての特性を維持していることが示された (表 2)。

表 2 P-ICG2-PS-Lip の物性

Particle size (nm)	180 ± 14
PDI	0.077 ± 0.040
ζ-Potential (mV)	-66.5 ± 7.40
Recovery (%)	75.6 ± 15.0
Activation potential (FL of 1% Triton / Buffer)	18.9 ± 2.0

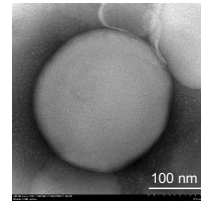


図 10 P-ICG2-PS-Lip の電顕写真

(3) P-ICG2-PS-Lip の RAW264 細胞における蛍光発光

RAW264 細胞を用いて、マクロファージを標的可能な P-ICG2-PS-Lip を添加した際の蛍光強度変化を調べた。この結果、P-ICG2 を添加した後から徐々に蛍光強度は高くなり、その後もインキュベーション時間の経過とともに蛍光強度は上昇し、最大測定時間である添加 24 時間後において最も高い値を示した。また、添加した P-ICG2 濃度依存的に蛍光強度は高くなることも確認できた。一方で細胞非存在下では、蛍光強度の上昇は確認できなかった (図 11)。

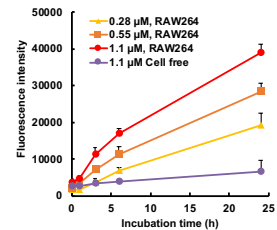


図 11 P-ICG2-PS-Lip の RAW264 細胞における蛍光発光

(4) P-ICG2-PS-Lip のマクロファージ標的性解析

RAW264 細胞およびマウス内皮 2H-11 細胞を共培養した際の P-ICG2-PS-Lip の蛍光発光を観察した。リポソーム化していない P-ICG2 を添加した際には、RAW264 細胞および 2H-11 細胞の両細胞にて ICG の蛍光が強く観察されたのに対し、P-ICG2-PS-Lip を添加した細胞においては、2H-11 細胞では蛍光が観察されず、ほとんどが RAW264 細胞にて確認された (図 12)。この結果より、P-ICG2-PS-Lip はマクロファージにて選択的に蛍光発光が誘導されることが示された。

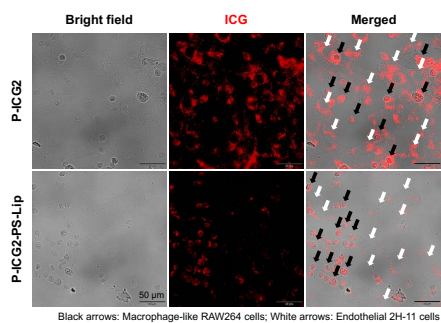


図 12 P-ICG2-PS-Lip のマクロファージ特異的な近赤外蛍光発光

#### (5) ICG 由来蛍光の細胞内局在観察

P-ICG2-PS-Lip のカテプシン B 依存的な蛍光発光までのメカニズム解明を目的として、マクロファージにおける ICG の細胞内蛍光分布を観察した。この結果、ICG の蛍光はリソソーム染色試薬 LysoTracker の蛍光と共局在している様子が多く観察され、カテプシン B によるペプチド鎖切断を受けて、P-ICG2 の蛍光発光が誘導されることが示された (図 13)。

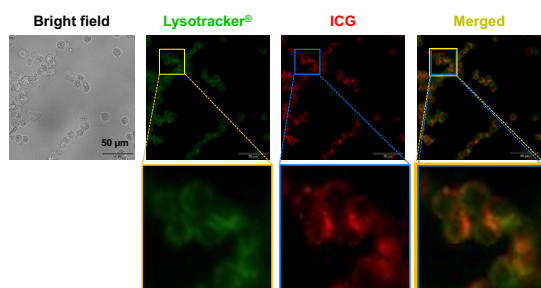


図 13 RAW264 細胞における ICG 蛍光の細胞内分布

#### 【担がんマウスにおける蛍光イメージング】

がん増殖におけるマクロファージの関与が知られている KLN205 と、その報告がなされていない Colon 26 の固形がん担がんマウスを用いて P-ICG2-PS-Lip のがん蛍光イメージング実験を行った。この結果、KLN 205 固形がんにおいて、P-ICG2-PS-Lip 投与直後から ICG の蛍光が確認でき、経時的にその蛍光が高くなることが示された (図 14A)。一方で C26 固形がんにおいては、ICG の蛍光はほとんど確認できなかった。また、投与 24 時間後の固形がんにおける蛍光を比較したところ、KLN205 固形がんにおける ICG の蛍光が高いことが確認された (図 14B)。

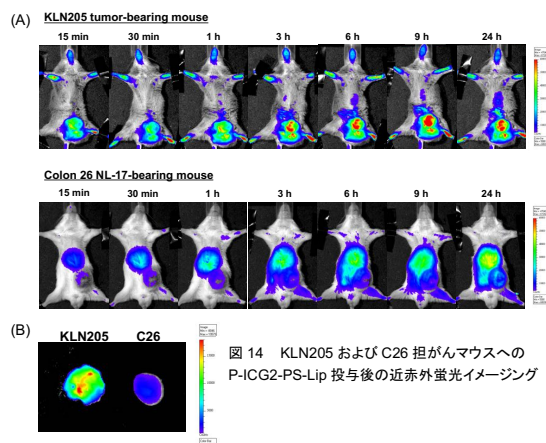


図 14 KLN205 および C26 担がんマウスへの P-ICG2-PS-Lip 投与後の近赤外蛍光イメージング

以上の結果から、リポソーム DDS 技術によるマクロファージ標的の特異性とアクチベータブル蛍光プローブの酵素特異性を兼ね備えた新規近赤外蛍光イメージング製剤が、がんの光イメージングを可能とし、がんの早期診断に向けた有用なツールであることが示された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 18 件)

1. 清水広介、成田雄大他、第 10 回日本分子イメージング学会総会・学術集会 (東京)
2. 清水広介、第 61 回日本薬学会東海支部総会・大会 (名古屋)
3. Yudai Narita, Kosuke Shimizu *et al.*, CRS 2015 Annual Meeting (Edinburgh)
4. 清水広介、第 15 回放射線医薬品・画像診断薬研究会 (京都)
5. 清水広介、日本分析化学会中部支部静岡講演会 (静岡)
6. 成田雄大、清水広介他、日本薬学会第 136 年会 (横浜)
7. 成田雄大、清水広介他、日本分子イメージング学会第 11 回総会・学術集会 (神戸)
8. 清水広介、第 32 回日本 DDS 学会学術集会 (静岡)
9. 清水広介、奥 直人他、第 22 回浜松医科学シンポジウム (浜松)
10. 清水広介、InnoPack Japan コンファレンス 2017 (東京)
11. 清水広介、成田雄大他、日本薬剤学会第 32 年会 (大宮)
12. 成田雄大、清水広介他、第 81 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム (名古屋)
13. 清水広介、成田雄大他、第 12 回日本分子イメージング学会総会・学術集会 (横浜)
14. 成田雄大、清水広介他、第 12 回日本分子イメージング学会総会・学術集会 (横浜)
15. Kosuke Shimizu, Yudai Narita *et al.*, CRS 2017 Annual Meeting (Boston)
16. Yudai Narita, Kosuke Shimizu *et al.*, ILS and LRD 2017 (Athens)
17. Yudai Narita, Kosuke Shimizu *et al.*, 2017 AAPS Annual Meeting (San Diego)
18. 清水広介、成田雄大他、第 22 回静岡健康・長寿学術フォーラム (静岡)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

清水広介 (SHIMIZU, Kosuke)

浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・准教授

研究者番号：30423841