

平成20年5月20日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18590036
 研究課題名（和文） ナノベシクルとナノスフェアの経皮送達に関する研究
 研究課題名（英文） Nanovehicle/nanoparticle delivery through skin
 研究代表者
 杉林 堅次（SUGIBAYASHI KENJI）
 城西大学・薬学部・教授
 研究者番号：00105834

研究成果の概要：

微粒子の皮内デリバリーは、エレクトロポレーションの使用により可能であることが明らかとなった。微粒子の皮内デリバリー方法の確立は、ワクチンデリバリーだけでなく放出制御型、pH 制御型および温度制御型微粒子製剤の皮内デリバリーを可能とすると考えられ、この研究結果は、新たな皮膚を介したデリバリーの一步として非常に有用であると考えられる。しかしながら、微粒子の物理化学的性質（粒子径、ゼータ電位、粘弾性など）と皮内デリバリー効率や皮内分布など多くの検討がまだまだ必要であり、早急に検討が必要であると考えられる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	800,000	0	800,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	780,000	4,180,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：物理系薬学

キーワード：ナノベシクル、ナノスフェア、経皮送達、TDDS

1. 研究開始当初の背景

ナノテクノロジーの発展により、ナノおよびマイクロ粒子をキャリアとしたデリバリーが可能になりつつある。ナノおよびマイクロ粒子の投与ルートとして経口ルート¹⁾だけでなく、眼、皮膚、鼻、肺など²⁻⁶⁾の非経口ルートがある。後者のうち、特に皮膚はそのアクセスのし易さから大変注目されており、すでに化粧品分野では、リポソームなどの脂質キャリアを用いたデリバリーが検討されている⁴⁾。しかしながら、皮膚の最も外側に位置する角層は、外界からの異物侵入の防御能を有しており、化学物質が皮膚を透過する際

の最大のバリアとなっている。そのため、ナノまたはマイクロ粒子を皮膚に適用しても角層を透過させることは困難であり、皮膚に適用したナノ粒子は角層表面に留まるか、毛嚢などの付属器官に集積するとの報告がある^{3,7,8)}。一般的に皮膚は分子量 500 Da 以上の物質の透過性が極めて低いことが知られている⁹⁾。したがって、ナノ粒子を皮内に送達させるためには、物理的手法の助けを借りて、角層バリアを回避する投与方法の使用が必要となる。すでに、物理的手段である無針注射器を使用することにより、治療用タンパク質、ワクチンや p-DNA の皮内送達が可能で

あることが報告されている¹⁰⁻¹⁴⁾。さらに、微粒子製剤の皮内送達部位をコントロールすることが出来れば、製剤修飾を施した粒子からの様々な薬物送達が可能になると考えられ、送達部位を薬の貯留部位とした新しいドラッグデリバリーシステムの構築が可能となる。しかしながら、微粒子の皮内デリバリーについて十分な検討が行われていない。

2. 研究の目的

現在の医薬品開発はハイスループットシステム (HTS) の採用で著しく加速された。しかし、治療薬数が増えても生体膜透過の改善はいかんともしがたい。加えて生体液中で不安定な医薬品キャンディデートも多く、製剤化と治療薬送達法が今後の医薬品開発のキーポイントになることは間違いない。

経口剤中心の医薬品開発はHTSで作られたキャンディデートを無駄に捨てることにもなる。投与ルートとしての皮膚と皮膚適用製剤は、QOLやアドヒアランス (患者が治療の中心であるという考え) からみても経口剤 (消化管) に匹敵するばかりか、現在注目を浴びているナノマテリアルを有効に利用できる最良の投与部位でもある。加えて、マイクロニードルや無針注射器の開発が「貼付型注射剤」または「注射型貼付剤」という概念をもたらし、もはや皮膚は透過性が極めて低い生体膜と考えるべきではない段階にきた。

このような考え方は以前より格段に理解され認知されてきたものの、治療薬、製剤、生体膜透過促進法を組み合わせた一般的な概念はまだない。

本研究を通じ、治療薬を含有したナノベシクルやナノスフィアが角層を透過し、薬効を表すことが明らかになれば、現在の医薬品開発法に新しい見方ができるようになると考える。

3. 研究の方法

3.1. Materials and animals

モデル粒子として用いた fluoresbrite® YG carboxylate microspheres (粒子径 0.5 および 6.0 μm) は Polysciences, Inc. (Warrington, PA, U.S.A.) より購入した。また、比較に用いた透過物質として sodium fluorescein および分子量 4,000 の fluorescein isothiocyanate dextran (それぞれ FL, FD-4 と略記) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, U.S.A.) を用いた。その他の試薬および溶媒は市販の特級および HPLC 用を用いた。体重 200-250 g の雄性ヘアレスラット

(WBN/ILA-Ht) は城西大学生命科学研究センター (埼玉、Japan) または石川実験動物研究所 (埼玉、Japan) から購入した。ブタ耳皮膚は埼玉実験動物 (埼玉、Japan) から購入した。三次元培養ヒト皮膚モデルである Living Skin Equivalent-high (以下 LSE-high と略記) は東洋紡績株式会社 (大阪、Japan) から購入した。

3.2. In vitro skin permeation study

ポリスチレン粒子の皮膚透過性評価にはブタ耳皮膚を用いた。ブタ耳皮膚は毛を除毛し、真皮下にある脂肪を剃刀で丁寧に取り除いた。皮膚を有効透過面積 1.77 cm^2 の Franz 型拡散セルに挟み²⁴⁾、角層側に phosphate buffered saline (PBS) 溶液で分散させた (3.64×10^{10} particles/mL for 0.5 μm spheres or 2.10×10^7 particles/mL for 6.0 μm spheres) ポリスチレン粒子懸濁液 1 mL を、真皮側に PBS を 6 mL 適用した。実験中セルの温度は 32°C に保ち、両セル内はスターヘッド型攪拌子をマグネティックスターラー (マルチスターラー MC-301、サイニクス、東京、Japan) により回転させることで攪拌した。12 時間の粒子適用の後、角層側に適用したポリスチレン粒子を取り除く目的で、角層側を PBS で丁寧に洗浄した。洗浄後皮膚は、粒子の皮内分布を観察するため Tissue-Tek® OTC compound (Miles, Inc., Elkhart, IN, U.S.A.) に包埋し、-80°C 保存した。

Hydrophilic fluorescence compounds (FL and FL-Na) の皮膚透過評価にはヘアレスラット皮膚と三次元培養皮膚を用いた。ペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) 麻酔下、ヘアレスラット腹部皮膚を剃毛処理した後左右から 1 枚ずつ摘出した²³⁾。ただし、stripped skin の場合はセロハンテープ (セロテープ®、ニチバン株式会社、埼玉) で 20 回ストリッピング処理し²²⁾、角層を完全に除去した後摘出した。三次元培養ヒト皮膚モデルは、LSE-high をそのまま使用した。各皮膚を side-by-side diffusion cell (有効透過面積 0.95 cm^2)^{21, 25)} に挟み、角層側に PBS で調製した 1 mM の FL もしくは 0.25 mM の FD-4 溶液 2.5 mL を、真皮側に PBS を 2.7 mL 適用した。実験中のセルの温度やスターラーの条件はポリスチレン粒子適用時と同様であった。経時的に真皮側から 0.4 mL サンプルングし、その都度、同容量の PBS を補充した。採取した溶液をサンプル溶液とし、サンプル溶液中の薬物濃度を測定して皮膚透過性を計算した。なお、FL と FD-4 の定量には、蛍光分光光度計 (RF5300PC、島津製作所、京都、Japan) を用いた。なお、条件は共に、Ex: 490 nm, Em: 520 nm である。

3.3. Preparation of skin section

Tissue-Tek® OTC compound に包埋・凍結した皮膚をクライオスタット (CM3050S, LEICA, Wetzlar, Germany) を用いて、垂直および水平方向に厚さ 20 μm に薄切した。作成した皮膚切片の蛍光画像は、蛍光顕微鏡 (CK40, OLYMPUS、東京、Japan) により観察した。

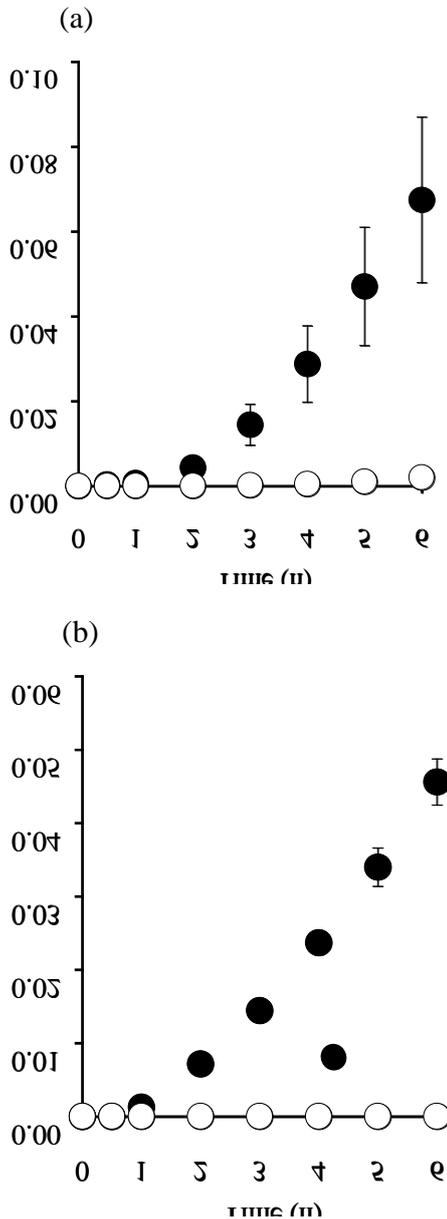


Fig.1 Cumulative amount of hydrophilic fluorescent compounds, FL (a) and FD-4 (b), through hairless rat skin(●) and LSE-high(○). Data are represented as the mean ± S.E. of 3-4 experiments.

4. 研究成果

ナノもしくはマイクロ粒子は、健全な角層を透過しないとの報告がある^{3, 18, 19, 20}。そこで、粒子の皮膚分配と皮内デリバリーの可能性について検討するため、水溶性蛍光マーカーである FL と FD-4 をヘアレスラット皮膚の浸透ルートを観察した。また、付属器官を持たない皮膚モデルとして、LSE-high を

使用した。Figure 1 にヘアレスラット摘出皮膚と LSE-high を介した FL と FD-4 の透過性の time course を調べた結果を示す。いずれの蛍光マーカーでもヘアレスラット皮膚透過性が認められたが、LSE-high 透過性は認められなかった。Figure 2 に両モデル蛍光薬物をヘアレスラット皮膚および LSE-high に 6 時間適用した後の皮膚中の分布を示す。FL は角層および毛嚢に分布を示す高い明度を示すのに対し、FD-4 は毛嚢特異的に高い明度がみられた。一方、3 次元培養皮膚モデルを用いた場合には、両モデル蛍光物質ともに皮膚の浅い部分にのみ蛍光が認められ、分子量が大きい FD-4 を適用した場合の方が、FL を適用した場合よりより皮膚の浅い部分にのみ分布が認められた。これらの結果より、分子量が大きくなるにつれて、毛嚢などの付属器官の寄与が大きくなることが示唆された。また、毛嚢などの付属器官の有無により今回用いたモデル蛍光薬物の皮内分布は、大きく異なることが分かった。

次に粒子径が 0.5 μm のポリスチレン粒子をブタ皮膚に適用した後の粒子分布部位について調べた。Figure 3(a)は、ポリスチレン粒子を 12 時間適用した後の毛嚢周辺部位の皮膚垂直切片画像を透過型顕微鏡像を、Figure 3 (b)および(c)は、Fig. 3(a)の指示部分の蛍光顕微鏡画像を示す。Fig. 3 (b)および(c)より、ポリスチレン粒子は毛嚢開口部や毛嚢に多く粒子が集積していることが分かった。次に、毛嚢部分の皮膚水平切片を作成し、ポリスチレン粒子の毛嚢への侵入深さを観察した。Figure 4 に毛嚢部分を角層表面から真皮側へ向かって厚み 20 μm の皮膚切片の蛍光顕微鏡像を示す。この結果から、ポリスチレン粒子は、皮膚表面から深さ 100 μm 程度まで毛嚢に沿って侵入していることが認められたが、深さ 200 μm 以下にはではポリスチレン粒子の侵入しないことが認められなかった。

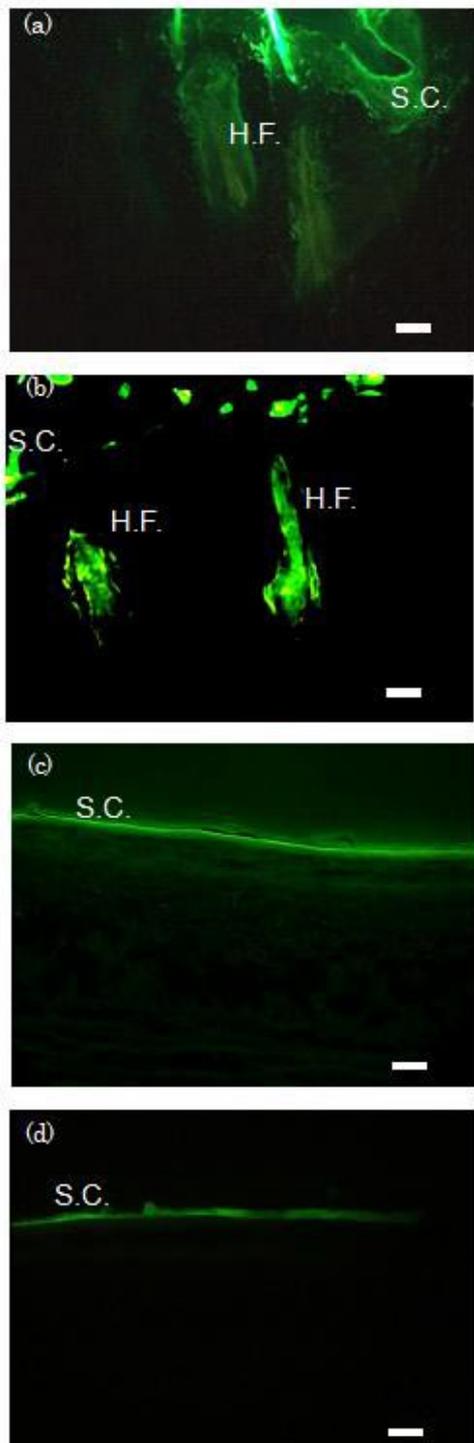


Fig. 2 Histological observation of hairless rat intact skin (a, b) and LSE-high (c,d) after application of FL (a, c) and FD-4 (b, d). S.C. and H.F. are abbreviation for stratum corneum and hair follicle, respectively.

(a, b): fluorescent derive from FL or FD-4 was observed surface of skin and in hair follicle in rat skin, (c, d): fluorescent derive from FL or FD-4

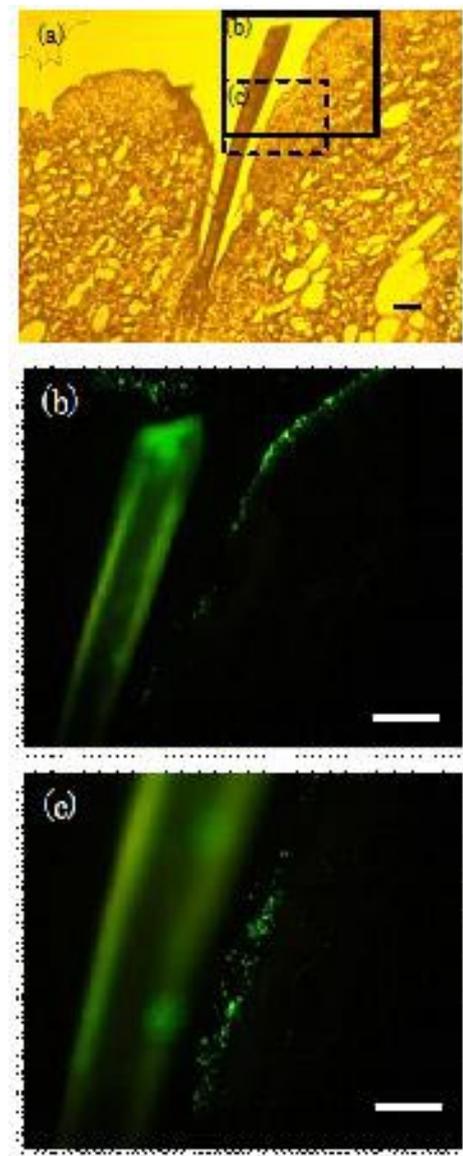


Fig. 3 Histological observation of excised porcine ear skin 12 h after application of 0.5 μm polystyrene particles. a: light micrograph observation of vertical slice. b and c : fluorescent micrograph observation of (b or c) area in Fig. 3(a). Each bar shows 200 μm . (b, c): polystyrene particles in opening of hair follicle and surface of hair shaft.

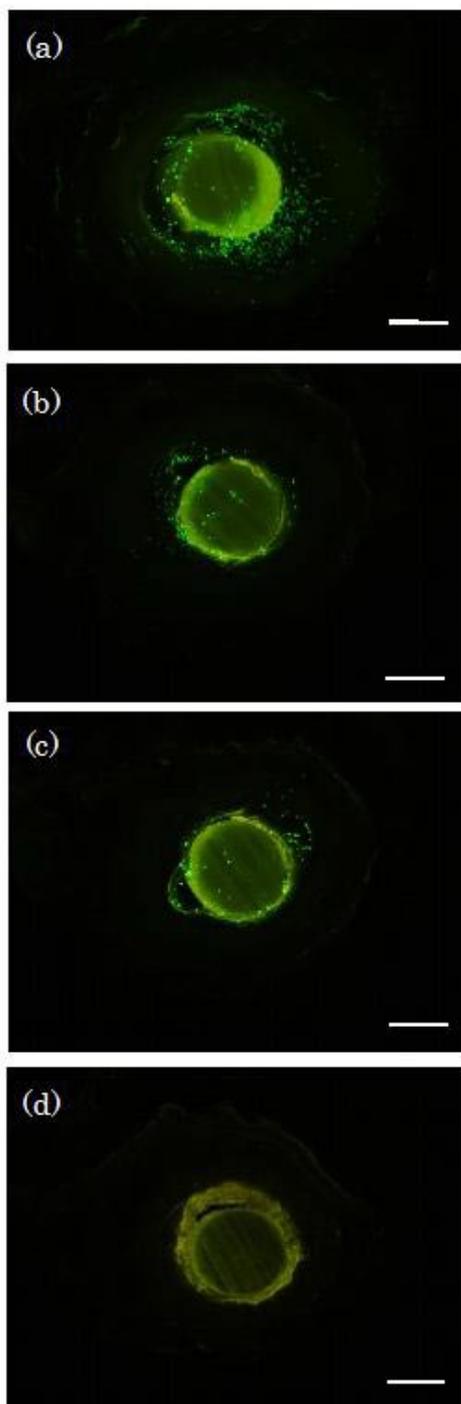


Fig. 4 Localization of penetrating 0.5 μm polystyrene particles in the hair follicle. Fluorescence images (a-d) are horizontal slicing at different depth from skin surface of excised porcine ear skin 12 h after application of particles. a: $\sim 20 \mu\text{m}$, b: $40\sim 60 \mu\text{m}$, c: $80\sim 100 \mu\text{m}$, d: $200\sim 220 \mu\text{m}$. Each bar shows $100 \mu\text{m}$.

(a): polystyrene particles detected on surface of hair shaft and connective tissue follicle, (b, c): the number of particles was gradually decreased with increasing depth from skin surface, (d) only autofluorescence was observed.

毛嚢などの経付属器官には、分子半径の大きな化学物質やサブミクロンの粒子が速やかに分布すると思われたので、毛嚢のような新たなルートを角層に形成すればナノサイズやマイクロサイズの粒子を皮内に効率よくデリバリーする可能性が考えられた。そこで、物理促進手段として用いられているエレクトロポレーションに注目し、粒子の皮内デリバリーの有用性について検討した。Figure 5 にエレクトロポレーション適用および未適用 12 時間後の 0.5 および $6.0 \mu\text{m}$ のポリスチレン粒子の皮膚表面および皮内分布を観察結果を示す。エレクトロポレーションを適用しない場合には、Fig 5(a)および(c)から明らかなように、皮膚内には粒子の分布は全く認められなかった。一方、エレクトロポレーションを適用した場合には、粒子が皮膚の浅い部分に非常に多く認められ、毛嚢などの付属器官を介さずに、皮内へ粒子を送達することができた。これは、 $0.5 \mu\text{m}$ の粒子だけでなく、 $6 \mu\text{m}$ の粒子でも同様の結果が認められた。

Discussion

LSE-high は毛嚢などの付属器官が欠損しているものの、LSE-high を介した薬物の透過性は、分子量 $122\sim 236$ 、 $-1.5 < \log K_{o/w} < 2.1$ の物理化学的性質を有する薬物では、ヒト皮膚、ブタ皮膚およびヘアレスラットの摘出皮膚の透過性と非常に良好な相関性が得られている²¹⁾。したがって、これらの範囲の物理化学的性質を有する薬物の主な皮膚透過ルートは、角層実質ルートである可能性が考えられた。これは Schuplein が、皮膚適用直後の低分子化学物質の皮膚浸透性に毛嚢などの経付属器官が重要な役割を果たしているが、付属器官の皮膚表面積に占める割合がわずか 0.1% と小さく、付属器官が薬物の皮膚透過性に及ぼす寄与は低いと報告¹⁸⁾した結果と一致している。

500 Da rule から推定されているように、分子量が 500 Da 以上の薬物を皮膚からデリバリーする場合、インスリンのように化学促進剤や物理的手段による皮膚透過性の改善

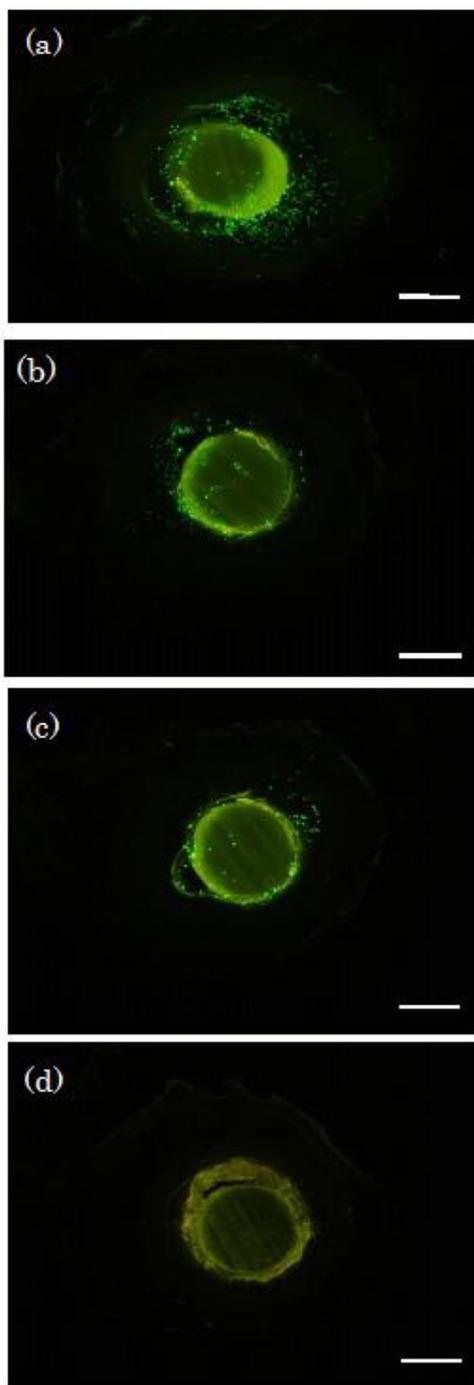


Fig. 4 Localization of penetrating 0.5 μm polystyrene particles in the hair follicle. Fluorescence images (a-d) are horizontal slicing at different depth from skin surface of excised porcine ear skin 12 h after application of particles.

a: $\sim 20 \mu\text{m}$, b: $40\sim 60 \mu\text{m}$, c: $80\sim 100 \mu\text{m}$, d: $200\sim 220 \mu\text{m}$. Each bar shows $100 \mu\text{m}$. (a): polystyrene particles detected on surface of hair shaft and connective tissue follicle, (b, c): the number of particles was gradually decreased with increasing depth from skin surface, (d) only autofluorescence was observed.

が必要である。例えば、Wu らはマイクロニードルとイオントフォレシスの併用が高分子化合物の皮膚透過性を大きく改善することを報告している²⁰⁾。マイクロニードルにより人工的に角層に小孔を形成させ高分子化合物を透過ルートに押し込む外部駆動力（イオントフォレシスのエレクトロオスモシス効果）を併用すれば、高分子化学物質やサブミクロンの粒子も、皮膚を透過することが可能だと考えられる。

今回の結果から、エレクトロポレーションの使用により、微粒子の皮内デリバリーが可能であることが明らかとなった。微粒子の皮内デリバリー方法の確立は、ワクチンデリバリーだけでなく放出制御型、pH 制御型および温度制御型微粒子製剤の皮内デリバリーを可能とすると考えられ、この研究結果は、新たな皮膚を介したデリバリーの一步として非常に有用であると考えられる。しかしながら、微粒子の物理化学的性質（粒子径、ゼータ電位、粘弾性など）と皮内デリバリー効率や皮内分布など多くの検討がまだまだ必要であり、早急に検討が必要であると考えられる。

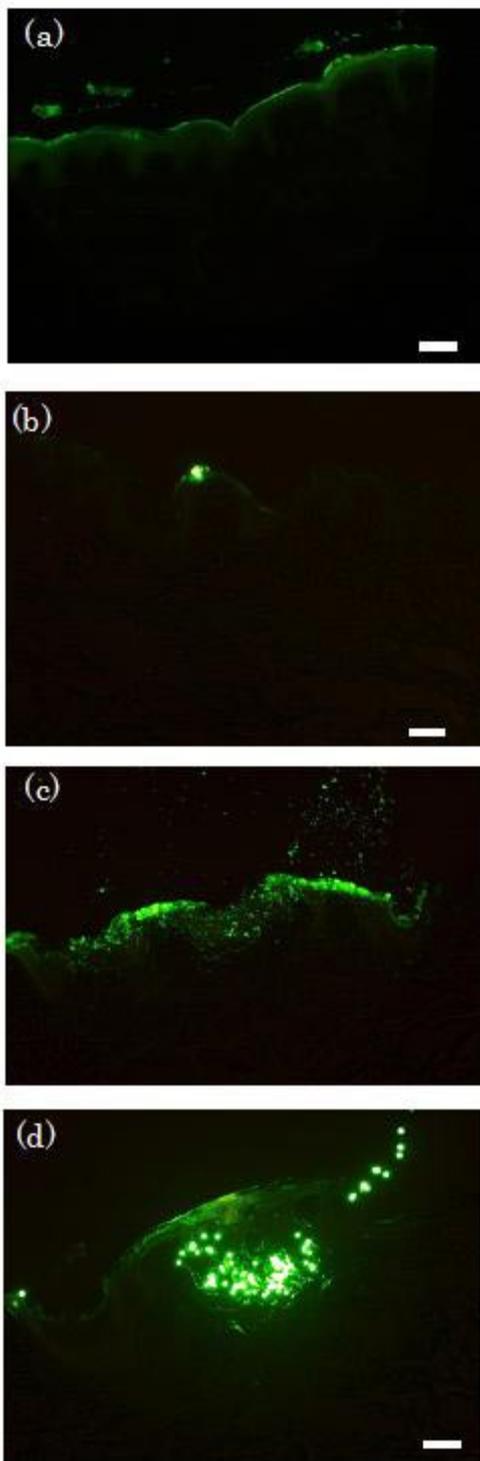


Fig. 5 Distribution of 0.5 μm (a, c) or 6 μm (b, d) polystyrene particles in excised pig ear skin with (b, d) or without (a, b) electroporation. Bar=100 μm

(a, b): polystyrene particles were detected on skin surface, (c, d): 0.5 μm and 6.0 μm of polystyrene particles observed in shallow part of skin. Particles could be visible as dot.

References

- [1] H. Takeuchi, Y. Matsui, H. Sugihara, H. Yamamoto, Y. Kawashima, Effectiveness of submicron-sized, chitosan-coated liposomes in oral administration of peptide drugs. *Int J Pharm* 303(1-2) (2005) 160-170.
- [2] R. Cavalli, M.R. Gasco, P. Chetoni, S. Burgalassi, M.F. Saettone, Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. *Int J Pharm* 238(1-2) (2002) 241-245.
- [3] R. Alvarez-Roman, A. Naik, Y.N. Kalia, R.H. Guy, H. Fessi, Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. *J Control Release* 99(1) (2004) 53-62.
- [4] P. Loan Honeywell-Nguyen, H.W. Wouter Groenink, J.A. Bouwstra, Elastic vesicles as a tool for dermal and transdermal delivery. *J Liposome Res* 16(3) (2006) 273-280.
- [5] H. Todo, K. Iida, H. Okamoto, K. Danjo, Improvement of insulin absorption from intratracheally administrated dry powder prepared by supercritical carbon dioxide process. *J Pharm Sci* 92(12) (2003) 2475-2486.
- [6] A.J. Almeida, E. Souto, Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Adv Drug Deliv Rev* 59(6) (2007) 478-490.
- [7] J. Lademann, H. Weigmann, C. Rickmeyer, H. Barthelmes, H. Schaefer, G. Mueller, W. Sterry, Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 12(5) (1999) 247-256.

- [8] R. Toll, U. Jacobi, H. Richter, J. Lademann, H. Schaefer, U. Blume-Peytavi, Penetration profile of microspheres in follicular targeting of terminal hair follicles. *J Invest Dermatol* 123(1) (2004) 168-176.
- [9] J.D. Bos, M.M. Meinardi, The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp Dermatol* 9(3) (2000) 165-169.
- [10] H.J. Dean, D. Fuller, J.E. Osorio, Powder and particle-mediated approaches for delivery of DNA and protein vaccines into the epidermis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 26(5-6) (2003) 373-388.
- [11] A.M. Pereira, A.A. van der Klaauw, H.P. Koppeschaar, J.W. Smit, S.W. van Thiel, J. van Doorn, N.R. Biermasz, F. Roelfsema, J.A. Romijn, Efficacy of needle-free administration of recombinant human growth hormone in adults with growth hormone deficiency. *Br J Clin Pharmacol* 61(4) (2006) 451-455.
- [12] D. Chen, R. Endres, Y.F. Maa, C.R. Kensil, P. Whitaker-Dowling, A. Trichel, J.S. Youngner, L.G. Payne, Epidermal powder immunization of mice and monkeys with an influenza vaccine. *Vaccine* 21(21-22) (2003) 2830-2836.
- [13] M. Kendall, S. Rishworth, F. Carter, T. Mitchell, Effects of relative humidity and ambient temperature on the ballistic delivery of micro-particles to excised porcine skin. *J Invest Dermatol* 122(3) (2004) 739-746.
- [14] M. Kendall, T. Mitchell, P. Wrighton-Smith, Intradermal ballistic delivery of micro-particles into excised human skin for pharmaceutical applications. *J Biomech* 37(11) (2004) 1733-1741.
- [15] B. Baroli, M.G. Ennas, F. Loffredo, M. Isola, R. Pinna, M.A. Lopez-Quintela, Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin. *J Invest Dermatol* 127(7) (2007) 1701-1712.
- [16] Scientific Committee on Consumer Products, OPINION ON SAFETY OF NANOMATERIALS IN COSMETIC PRODUCTS.
- [17] L.W. Zhang, N.A. Monteiro-Riviere, Assessment of quantum dot penetration into intact, tape-stripped, abraded and flexed rat skin. *Skin Pharmacol Physiol* 21(3) (2008) 166-180.
- [18] R.J. Scheuplein, Mechanism of percutaneous absorption. II. Transient diffusion and the relative importance of various routes of skin penetration. *J Invest Dermatol* 48(1) (1967) 79-88.
- [19] L. Langkjaer, J. Brange, G.M. Grodsky, R.H. Guy, Iontophoresis of monomeric insulin analogues in vitro: effects of insulin charge and skin pretreatment. *J Control Release* 51(1) (1998) 47-56.
- [20] X.M. Wu, H. Todo, K. Sugibayashi, Enhancement of skin permeation of high molecular compounds by a combination of microneedle pretreatment and iontophoresis. *J Control Release* 118(2) (2007) 189-195.
- [21] T. Watanabe, T. Hasegawa, H. Takahashi, T. Ishibashi, K. Takayama, K. Sugibayashi, Utility of the three-dimensional cultured human skin model as a tool to evaluate skin permeation of drugs. *Altern Animal Test Experiment* 8(1) (2001) 1-14.
- [22] R.L. Bronaugh, R.F. Stewart, M. Simon, Methods for in vitro percutaneous absorption studies. VII: Use of excised human skin. *J Pharm Sci* 75(11) (1986) 1094-1097.
- [23] Y. Obata, K. Takayama, Y. Maitani, Y. Machida, T. Nagai, Effect of pretreatment of skin with cyclic monoterpenes on permeation of diclofenac in hairless rat. *Biol Pharm Bull* 16(3) (1993) 312-314.
- [24] M. Yoshida, K. Mori, T. Watanabe, T. Hasegawa, K. Sugibayashi, Effects of application voltage and cathode and anode positions at electroporation on the in vitro permeation of benzoic acid through hairless rat skin. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 48(11) (2000) 1807-1809.
- [25] M. Okumura, K. Sugibayashi, K.

Ogawa, Y. Morimoto, Skin permeability of water-soluble drugs. Chem Pharm Bull (Tokyo) 37(5) (1989) 1404-1406.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

Kenji SUGIBAYASHI, Hiroaki TODO and Eriko KIMURA, SAFETY EVALUATION OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES BY THEIR ABSORPTION AND ELIMINATION PROFILES, Journal of Toxicological Sciences,

杉林 堅次、有効性を発揮させるための剤形構築、皮膚浸透・経皮吸収に及ぼす剤形の影響、日本化粧品学会誌、30、261-265、2007

杉林 堅次、杉野 雅浩、皮膚を介した薬物デリバリー、化学工業、5月号、p72-78、2008

杉林 堅次、紫外線防御試験法の国際的動向と紫外線防御剤の開発の課題：化粧品に用いられるナノ粒子の曝露と安全性問題のあり方、Fragrance journal、10月号、p38-41、2008

[学会発表] (計 5 件)

木村 恵理子、藤堂 浩明、杉林 堅次、微粒子酸化チタンの体内分布と毒性評価、日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月、京都

杉林 堅次、ナノ粒子の皮膚暴露・皮膚浸透の可能性を考える、第 15 回 日本免疫毒性学会、2008 年 9 月、船堀、東京

Kenji Sugibayashi, Transdermal and intradermal delivery of high-molecular compounds: cut-off size of chemical compounds by skin and cutaneous vascular membranes, France Japan 8th Drug Delivery Symposium, October, 2008, Cannes, France.

安野 浩崇、藤堂 浩明、杉林 堅次、水溶性高分子およびナノスフェアの皮膚浸透ルートおよび浸透性に関する研究、第 127 年会 日本薬学会、2007 年 3 月、富山

藤堂 浩明、杉林 堅次、Enhanced skin permeation から injection-like delivery へ、第 22 回 日本 DDS 学会、2006 年 7 月、東京

[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]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉林 堅次・城西大学・薬学部・教授
研究者番号 (0010 5834)

(2) 研究分担者

藤堂 浩明・城西大学・薬学部・助教
研究者番号 (10383184)

石井 宏・城西大学・薬学部・助手
研究者番号 (90383182)

(3) 連携研究者