

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02649

研究課題名(和文) 血液脳関門の膜介在型経細胞輸送の新規分子機構の解明と中枢DDSへの応用

研究課題名(英文) New molecular mechanisms for membrane-mediated transcellular transport across the blood brain barrier

研究代表者

大槻 純男(Ohtsuki, Sumio)

熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・教授

研究者番号：60323036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：血液脳関門(BBB)の経細胞輸送は脳deliveryの標的として重要である。本研究では新規知見を基盤としBBBの膜介在型経細胞輸送系の輸送メカニズム、標的分子の細胞への影響、新規解析技術開発を目的とした。Insulin receptorはBBB機能維持として機能し、新規同定内在化分子のpodocalyxinは細胞膜タンパク質のリサイクリングに参与している。脳毛細血管単離技術と最新プロテオーム解析技術を統合し、高深度BBBプロテオーム情報を得て、BBBプロテオームの日内変動や新生児変化を明らかにした。得られた成果は今後の脳へdeliveryや薬物分布を理解する上で重要な知見となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳へのdeliveryの標的分子はBBBに発現する内在性タンパク質であるため、分子本来の脳毛細血管に対する機能を有する。つまりdelivery標的としての機能と内在性機能が干渉する可能性があり、本研究の成果はそのような干渉を見積もるために重要な知見を与える。また、脳へのdelivery開発には種差が問題となっており、また、病態時に健常と同様に脳へ分布するかも重要である。本研究で開発した高深度BBBプロテオーム解析技術はそのような課題に重要な情報を与える技術である。

研究成果の概要(英文)：Membrane-mediated transcellular transport of the blood-brain barrier (BBB) has attracted attention as a target for brain delivery. The aim of this study was to develop new knowledge on the transport mechanisms of the membrane-mediated transcellular transport of the BBB, the effects of target molecules on cell functions, and new analytical techniques based on the new findings of the principal investigators. The insulin receptor functions to maintain BBB function in brain capillaries. A newly identified internalized molecule, podocalyxin, is involved in the recycling of plasma membrane proteins. Furthermore, by integrating our original brain capillary isolation technology with the latest proteome analysis technology, we succeeded in obtaining high-depth BBB proteome information and clarified the diurnal variation of the BBB and changes in the BBB proteome in neonates. The results obtained will be important for understanding delivery and drug distribution to the brain in the future.

研究分野：分子薬剤学

キーワード：脳関門 脳毛細血管 膜輸送 内在化 DDS プロテオミクス

1. 研究開始当初の背景

血液脳関門(BBB)はトランスポーターによる低分子輸送に加えエンドサイトーシスやエキソサイトーシスを含む膜介在型神経細胞輸送系を有しており、その輸送機構はペプチド、タンパク質や核酸の中核 DDS の標的として注目されている。膜介在型神経細胞輸送系は大きく2つに区分される。一つは受容体介在性トランスサイトーシス (receptor-mediated transcytosis, RMT) であり、もう一つは膜吸着介在性トランスサイトーシス(adsorptive-mediated transcytosis, AMT)である。後者の AMT は電荷的相互作用を介したカチオン性物質の BBB 輸送機構として古くから知られ、ペプチドやタンパク質のカチオン化修飾やリポソームの細胞透過ペプチド(CPP)修飾による BBB 透過促進に広く応用され、RMT と並ぶ中枢送達経路として注目されてきた。また、BBB の膜介在型神経細胞輸送系は方向性を持ったベクトル輸送である事が知られている。輸送の方向性は分泌の極性が規定するが、分泌に関わる機構も未解明である。脳への drug delivery に資する分子に関しては、標的分子だけではなく、そのメカニズムや drug delivery として使用された際の影響など不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

血液脳関門(BBB)の膜介在型神経細胞輸送は、中高分子の中核 DDS の標的として注目されている。しかし、これまでは受容体介在型トランスサイトーシスの標的分子の探索と利用に研究が集中している。そこで脳への drug delivery の知見を拡大するために本研究では我々の新規知見を基盤とし BBB の膜介在型神経細胞輸送系の神経細胞輸送メカニズムや標的分子の細胞への影響、さらには新たな解析技術開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1, 2) 脳毛細血管における insulin receptor および podocalyxin の機能の解明

ヒト BBB モデル細胞として不死化ヒト脳毛細血管内皮細胞(hCMEC/D3 細胞)を用いた。レンチウイルスを用いて標的遺伝子発現をノックダウンしたノックダウン細胞および対象 shRNA で同一処理を行ったコントロール細胞をクローン化してそれぞれ細胞を得た。プロテオーム解析は、培養細胞から細胞質画分、粗膜画分、細胞膜画分を調製し、それぞれを PTS 法により還元、アルキル化、トリプシン消化、脱塩を行い、LC-MS/MS により測定した(1)。測定データを DIA-NN により解析しタンパク質の同定と発現量の定量データを得た。

(3) BBB 透過性環状ペプチドの透過機序の解明

BBB 透過活性は不死化ヒト脳毛細血管内皮細胞(hCMEC/D3 細胞)を Transwell 上で培養し、apical 側に環状ペプチドを提示しているファージ、および提示していないコントロールファージ、および種々の添加物を添加した。その後、basal 側への透過したファージ数によって透過量を測定した。

(4) 高深度 BBB プロテオーム解析と応用

脳毛細血管は凍結脳から我々の報告した手法(2)を用いて単離した。単離した脳毛細血管からライゼートを調製し、PTS 法により還元、アルキル化、トリプシン消化、脱塩を行いプロテオーム解析の試料を作成した。試料を LC-MS/MS の data-independent acquisition モードによって測定し、得られたデータを DIA-NN によって解析し、タンパク質の同定と発現データを得た。新生児マウスからの脳毛細血管単離は上記の単離法を微修正して実施した(3)。

4. 研究成果

(1) 脳毛細血管における insulin receptor の機能の解明

Insulin receptor は循環血中から脳への BBB 透過を促進する delivery target 分子としてすでに中枢創薬に利用されている分子である。一方、insulin receptor は細胞機能を制御する insulin signal の源としての機能を有する。これまでの我々の研究により高脂肪食投与したインスリン抵抗性モデルマウスの脳毛細血管ではトランスポーター、受容体、密着結合タンパク質の発現変動や BBB 機能変化が明らかになっている(4)。従って、insulin receptor を delivery target として利用する際、insulin receptor から発せられる signal が BBB 機能に影響を及ぼす可能性がある。そこで、insulin receptor による BBB 制御を明らかにするため、insulin receptor をノックダウンしたヒト BBB モデル細胞のプロテオームや機能変化を解析した。ノックダウン細胞では insulin signal の低下に加えて、解糖系に関わる分子の発現が低下していた。さらに、ノックダウン細胞では ABCB1 や ABCG2 など排出トランスポーターに加え複数の SLC トランスポーター、transferrin receptor、claudin-5 等の BBB の機能発現に重要な分子の発現が低下していた。ノックダウン細胞における ABCB1 の排出輸送能を測定した結果、コントロール細胞と比較し排出能が低下していた。従って、insulin receptor は BBB 機能維持に重要な働きをしていることが明らかになった。興味深いことに、ノックダウン細胞では amyloid- β ペプチド産生酵素の誘導、分解酵素の低下、および内在化受容体の上昇が認められた。この発現変化は脳血管周囲および内部に amyloid- β ペプチドが蓄積する cerebral amyloid angiopathy (CAA)を促進する方向である。インスリン抵抗性はアルツハイ

マー病、CAA のリスクであり、insulin receptor の signal 低下が CAA の促進に関わっている可能性を示している。以上から insulin receptor は輸送分子の機能に加え、BBB 機能維持や中枢疾患と密接に関わっていることを明らかにした(5)。BBB における insulin receptor の機能についてこれまでの研究を総説としてまとめ発表した(6)。

(2) 新規 BBB 内在化分子の脳毛細血管における機能の解明

これまでに我々は内在化タンパク質を網羅的に解析するプロテオーム解析により hCMEC/D3 に速い速度で内在化する分子として podocalyxin (PODXL)を同定した(7)。しかし、PODXL が血管の管腔構造の形成に関わっているということは報告されていたが、BBB および脳毛細血管内皮細胞における PODXL の機能は不明であった。そこで、podocalyxin (PODXL)をノックダウンした hCMEC/D3 細胞を作成し、ノックダウンを用いて PODXL の脳毛細血管内皮細胞における機能の解析を行った。PODXL ノックダウン細胞では PODXL 発現が約 40%低下し、細胞増殖や細胞形への影響は観察されなかった。ノックダウン細胞とコントロール細胞の細胞質画分と粗膜画分を高感度質量分析によりプロテオーム変化を解析した。得られた質量分析データをタンパク質発現データにデータ処理し、コントロール細胞とノックダウン細胞間で発現量の比較解析を行い、得られたデータに対して gene ontology 解析や pathway 解析等のインフォマティクスを実施した。その結果、細胞内在化や細胞内輸送に関わるタンパク質の変動が示唆される解析結果を得た。さらに、薬物動態に重要な ABC トランスポーターの発現が PODXL-KD D3 細胞では発現が誘導されている興味深い結果を得た。ABCB1/MDR1 に関しては PODXL-KD D3 細胞では排出活性についても誘導されていることを明らかにした。PODXL は細胞膜リサイクリングを制御し、トランスポーター等の細胞膜タンパク質の細胞膜における存在量をコントロールしている可能性がある(8)。PODXL が内在化に関わることに加え細胞外部位が高度にシアル酸修飾を受けていることから、膜吸着介在性トランスサイトosisへの関与を考えた。そこで PODXL の膜吸着介在性トランスサイトosisへの関与を蛍光標識 TAT ペプチドの細胞内取込みにより検討した。その結果、蛍光標識 TAT ペプチドの取込みはノックアウト細胞とコントロール細胞で有意差はなかった。以上から PODXL は自身が内在化されるだけでなく、細胞膜タンパク質のリサイクリングに関与してその発現量を制御していること、膜吸着介在性トランスサイトosisへの寄与は小さいことが示唆された。これらは脳毛細血管内皮細胞における PODXL の機能をはじめて明らかにした成果である。

(3) BBB 透過性環状ペプチドの透過機序の解明

これまでの研究で BBB 透過能を持つ環状ペプチドを同定している。この環状ペプチドを提示するファージや環状ペプチドで修飾したリポソームは循環血中から脳への移行が促進される。そこで、この BBB 透過環状ペプチドの脳毛細血管内皮細胞透過メカニズムについて解析を行った。hCMEC/D3 細胞を用いた BBB モデル系による環状ペプチドの透過活性に対するさまざまな物質の添加効果を検討した結果、transferrin と fibrinogen によって透過速度が上昇することが明らかとなった。両タンパク質に共通し exosome に関連する影響が報告されていたことから、exosome 放出促進剤である monensin の影響を検討した結果、同様に環状ペプチドの透過速度を上昇させることを見出した。この結果は環状ペプチドの分泌過程に exosome 関連経路に関わっている事を示唆している。

(4) 高深度 BBB プロテオーム解析と応用

これまでに脳組織から高効率で脳毛細血管を単離する技術を確立している。さらに、プロテオーム技術の開発により定量性を確保しながら飛躍的に同定数が向上している。これら 2 つの最新技術を組み合わせることによって高深度な BBB プロテオーム情報を取得し、新規内在化の候補分子を同定につながることを期待される。そこで、ヒト脳から脳毛細血管を単離し、単離ヒト脳毛細血管および 2 種のヒト脳毛細血管内皮細胞株について高深度プロテオーム解析と RNA-seq 解析を実施した。その発現量を比較した結果、sample 間の発現変動倍率にはタンパク質レベルと遺伝子レベルで相関は有意($p < 0.05$)であったが相関係数は 0.5 以下であった。プロテオーム解析では各サンプルにおいて約 7900 タンパク質の発現データを得た。さらに、マウス脳組織から脳毛細血管を単離し、単離マウス脳毛細血管およびマウス脳毛細血管内皮細胞の高深度プロテオーム解析を実施した。全てについて 7000 分子を超えるタンパク質の定量値データを得ることができた。これらの解析から得られた高深度 BBB プロテオーム情報から膜タンパク質を抽出し、あらたな内在化候補分子の解析を実施している。さらに、ヒトとマウスの BBB 間で種差を示す新たなトランスポーター分子を同定し、新たな研究へ展開している。

また、これらの技術を発展させ、さまざまな状態での BBB の変化をプロテオームレベルで解析を行った。まず、内在化活性を含めた BBB 機能に対する日内変動の可能性を検証するために、マウス脳毛細血管のプロテオームの日内変動を検討した。独自開発の単離法を用い、各時間において 1 匹のマウスからプロテオーム解析に十分な脳毛細血管を単離することに成功した。1 日における 4 つの時間でのマウス脳毛細血管を単離し、プロテオーム解析をおこなった。その結果、脳内への輸送に関わるインスリン受容体やトランスフェリン受容体の発現に日内変動は認められなかった。また、脳への薬物分布に関わるトランスポーターや密着結合タンパク質の発現も日内変動は認められなかった。従って、BBB における輸送機能に対する日内変動は関与が小さい

ことが示唆された(9)。

新生児マウスの BBB に対しても上記技術を応用した。新生児脳および脳毛細血管は脆弱であるために脳毛細血管単離法の修正による最適化を実施し、1匹の凍結新生児脳からプロテオーム解析に十分な量の脳毛細血管を単離することに成功した。単離した脳毛細血管画分には脳と比較して claudin-5 や ABCB1 等の脳毛細血管に選択的に発現している分子が濃縮されていることが確認された。新生児と成体マウス間の比較では、複数のトランスポーターや受容体等の膜輸送分子が成長依存的に発現量が変動することが明らかとなった。これらのデータは今後の薬物脳分布や脳への標的を解析する上で重要なデータとなることが期待できる(3)。

<引用文献>

1. T. Masuda, A. Mori, S. Ito, S. Ohtsuki: Quantitative and targeted proteomics-based identification and validation of drug efficacy biomarkers. *Drug Metab Pharmacokinet*, 36:100361 (2021)
2. S. Ogata, S. Ito, T. Masuda, S. Ohtsuki: Efficient isolation of brain capillary from a single frozen mouse brain for protein expression analysis. *J Cereb Blood Flow Metab*, 271678X20941449 (2020)
3. Y. Hamada, S. Ogata, T. Masuda, S. Ito, S. Ohtsuki: Development of a method for isolating brain capillaries from a single neonatal mouse brain and comparison of proteomic profiles between neonatal and adult brain capillaries. *Fluids Barriers CNS*, 20:50 (2023)
4. S. Ogata, S. Ito, T. Masuda, S. Ohtsuki: Changes of Blood-Brain Barrier and Brain Parenchymal Protein Expression Levels of Mice under Different Insulin-Resistance Conditions Induced by High-Fat Diet. *Pharm Res*, 36:141 (2019)
5. H. Nagano, S. Ito, T. Masuda, S. Ohtsuki: Effect of Insulin Receptor-Knockdown on the Expression Levels of Blood-Brain Barrier Functional Proteins in Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Pharm Res*, 39:1561-1574 (2022)
6. S. Ohtsuki: Insulin receptor at the blood-brain barrier: Transport and signaling. *Vitamins and Hormones*, in press.
7. S. Ito, M. Oishi, S. Ogata, T. Uemura, P.O. Couraud, T. Masuda, S. Ohtsuki: Identification of Cell-Surface Proteins Endocytosed by Human Brain Microvascular Endothelial Cells In Vitro. *Pharmaceutics*, 12:(2020)
8. H. Nagano, S. Ogata, S. Ito, T. Masuda, S. Ohtsuki: Knockdown of Podocalyxin Post-Transcriptionally Induces the Expression and Activity of ABCB1/MDR1 in Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *J Pharm Sci*, 111:1812-1819 (2022)
9. S. Ogata, S. Ito, T. Masuda, S. Ohtsuki: Diurnal Changes in Protein Expression at the Blood-Brain Barrier in Mice. *Biol Pharm Bull*, 45:751-756 (2022)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Nagano Hinako, Ogata Seiryō, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 111 |
| 2. 論文標題 Knockdown of Podocalyxin Post-Transcriptionally Induces the Expression and Activity of ABCB1/MDR1 in Human Brain Microvascular Endothelial Cells | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences | 6. 最初と最後の頁 1812 ~ 1819 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2022.02.006 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Ogata Seiryō, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 45 |
| 2. 論文標題 Diurnal Changes in Protein Expression at the Blood?Brain Barrier in Mice | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin | 6. 最初と最後の頁 751 ~ 756 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00016 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Mori Ayano, Masuda Takeshi, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Human Hepatic Transporter Signature Peptides for Quantitative Targeted Absolute Proteomics: Selection, Digestion Efficiency, and Peptide Stability | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Pharmaceutical Research | 6. 最初と最後の頁 2965 ~ 2978 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-022-03387-8 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Nagano Hinako, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Effect of Insulin Receptor-Knockdown on the Expression Levels of Blood?Brain Barrier Functional Proteins in Human Brain Microvascular Endothelial Cells | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Pharmaceutical Research | 6. 最初と最後の頁 1561 ~ 1574 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-021-03131-8 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Masuda Takeshi, Mori Ayano, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Quantitative and targeted proteomics-based identification and validation of drug efficacy biomarkers | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Drug Metabolism and Pharmacokinetics | 6. 最初と最後の頁 100361 ~ 100361 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dmpk.2020.09.006 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Masuda Takeshi, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Advances in sample preparation for membrane proteome quantification | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Drug Discovery Today: Technologies | 6. 最初と最後の頁 23 ~ 29 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ddtec.2021.06.005 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------|
| 1. 著者名 Hamada Yudai, Ogata Seiryu, Masuda Takeshi, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Development of a method for isolating brain capillaries from a single neonatal mouse brain and comparison of proteomic profiles between neonatal and adult brain capillaries | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Fluids and Barriers of the CNS | 6. 最初と最後の頁 50 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12987-023-00449-w | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Ohtsuki Sumio | 4. 巻 125 |
| 2. 論文標題 Insulin receptor at the blood?brain barrier: Transport and signaling | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Vitamins and Hormones | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.vh.2024.05.001 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

[学会発表] 計13件(うち招待講演 9件/うち国際学会 8件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Cyclic peptide carriers to facilitate intestinal absorption and BBB permeability |
| 3. 学会等名 BI Nanocarrier Symposium (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Blood-Brain Barrier Proteomics |
| 3. 学会等名 5th Mini-Symposium on the Blood-Brain Barrier (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Proteome-based approach to human health and disease |
| 3. 学会等名 CCII/ CGM Joint Symposium (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Receptor-mediated transport for delivery of macro- and middle-molecular drug across biological barriers. |
| 3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ayaka Miyano, Shingo Ito, Yumi Iwata, Shin Nishiumi, Tomohide Gotoh, Michihiko Sugimoto, Kimi Araki, Satohiro Nakao, Naomi Nakagata, Toru Takeo, Takeshi Masuda, Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Changes in creatine levels in mouse models of creatine transporter deficiency syndrome |
| 3. 学会等名 The 3rd international virtual forum on modern pharmacology and toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Cyclic peptides facilitating intestinal absorption and blood-brain barrier permeability |
| 3. 学会等名 Pacifichem2021 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大槻純男 |
| 2. 発表標題 質量分析を用いた高感度タンパク質定量のノウハウ |
| 3. 学会等名 慶應薬学先端実学 (サイヤンス) セミナー (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki |
| 2. 発表標題 Impact of intestinal flora on host metabolism of drug, sugar and lipid |
| 3. 学会等名 The 39th Frontier Scientists Workshop (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 吉田尚功、伊藤慎悟、緒方星陵、増田豪、大槻純男 |
| 2. 発表標題 マウス大脳と小脳の単離毛細血管における血液脳関門プロテオーム比較解析 |
| 3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 伊藤慎悟、大石真梨子、緒方星陵、上村立記、Pierre-Olivier Couraud、増田豪、大槻純男 |
| 2. 発表標題 細胞膜タンパク質ピオチン標識法とSWATH-MSによる網羅的タンパク質定量法を組み合わせたヒト脳毛細血管内皮細胞における細胞内内在化膜タンパク質の同定 |
| 3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 増田豪、伊藤慎悟、石濱泰、大槻純男 |
| 2. 発表標題 エチレングリコールを用いた細胞分画法とプロテオミクスへの応用 |
| 3. 学会等名 第42回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Sumio Ohtsuki, Hinako Nagano, Seiryu Ogata, Takeshi Masuda, Shingo Ito |
| 2. 発表標題 Regulation of the blood-brain barrier by membrane receptor |
| 3. 学会等名 4th Mini-Symposium on the Blood-Brain Barrier from Basic to Clinical Research (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 伊藤慎悟 |
| 2. 発表標題 定量プロテオミクスを基盤とする血液脳関門における物質輸送分子と病態発症機構の解明 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第142年会（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| <p>熊本大学大学院生命科学研究部微生物薬学分野 https://ohtsuki-lab.jp/ja/</p> |
|---|

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 伊藤 慎悟 (Ito Shingo) (20466535) | 熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・准教授 (17401) | |
| 研究分担者 | 増田 豪 (Masuda Takeshi) (70383940) | 熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・助教 (17401) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|