

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790047

研究課題名(和文) 逆標的化戦略を駆使したスギ花粉症根治療法の確立

研究課題名(英文) Development of therapy for Japanese cedar pollinosis by utilizing reverse-targeting drug delivery system

研究代表者

清水 広介 (Shimizu, Kosuke)

静岡県立大学・薬学部・講師

研究者番号：30423841

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：スギ花粉から抽出・精製した主要抗原Cry j 1を用いてCry j 1修飾リポソームを調製し、スギ花粉症モデルマウスに投与したところ、抗体産生の際である胚中心を形成する脾臓内B細胞に取り込まれることを明らかにした。さらにドキシソルビシン内封Cry j 1修飾リポソームの投与により、スギ花粉症モデルマウスのCry j 1特異的IgE抗体の産生が有意に抑制されるだけでなく、花粉症症状であるくしゃみの回数や鼻掻き行動が減少することも明らかにした。またその効果は抗原特異的であり、長期的に持続した。本研究の成果により、逆標的化を利用した治療戦略がスギ花粉症に対して有用であることが示された。

研究成果の概要(英文)：I first succeeded to purify major antigen of Japanese cedar pollinosis, Cry j 1 from Japanese cedar pollen. Then, Cry j 1-modified liposomes were prepared and the targetability of liposomes in Cry j 1-sensitized mice was examined. The results indicated that Cry j 1-modified liposomes were incorporated into the splenic B cells that formed marginal center for antibody production after the systemic injection. Furthermore, when Cry j 1-sensitized mice were treated with doxorubicin-encapsulated Cry j 1-modified liposomes, the production of anti-Cry j 1 IgE antibody following the boosting of Cry j 1 to the mice was significantly suppressed and the allergic symptoms such as sneezing and nasal rubbing were reduced. Notably, the anti-allergic effect was antigen-specific and continued for a long term. These results suggest that the therapeutic strategy utilizing reverse targeting DDS could be useful for the treatment of Japanese cedar pollinosis.

研究分野：薬物送達学

キーワード：ターゲティング リポソーム スギ花粉症 B細胞 逆標的化 Cry j 1 胚中心

1. 研究開始当初の背景

スギ花粉症は即時型アレルギーの一つであり、日々の症状のつらさから日本国民の生活の質を大きく低下させるため、社会問題にまで発展している疾患である。これに対する薬の処方としては、症状の直接的な原因となるヒスタミンの作用を抑制する抗ヒスタミン薬や抗アレルギー薬などが適用されているが、これらの対処法はすべて症状緩和のための対症療法に過ぎず、また症状を抑えるために日々の処置が必須となっている。一方で、スギ花粉症治療の中で唯一長期寛解・治癒が望めるのが減感作療法であるが、数年間の抗原反復投与が必要であり、患者への投与負担やショックなどの副作用発現も問題となっている。このため簡便かつ有用な根本的治療法の確立が強く望まれているが、有効な根治療法は存在しない。

一方で逆標的化とは、抗原がその抗体と特異的に反応する抗原抗体反応を逆手にとって、抗原を表面修飾したリポソームをその抗体を発現する免疫細胞に認識させるといふ、新しいコンセプトの標的化戦略である。我々はアレルギー疾患治療への応用を踏まえ、モデル抗原 OVA を用いて OVA 修飾リポソームを調製し、OVA 修飾リポソームが OVA 感作マウスの免疫細胞に認識されることを明らかとしてきた (Ichikawa *et al.*, *Int J Pharm*, 336, 2007)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、逆標的化戦略を利用してスギ花粉症に対する根本治療を目指すものである。研究は、スギ花粉から主要抗原である Cry j 1 を抽出・精製する方法の違いにより 2 段階に分けられ、まず (A) 粗精製 Cry j 1 を用いた検討を行い、その後 (B) 高精製 Cry j 1 を用いて、それぞれスギ花粉症治療を行った。

3. 研究の方法

【A. 粗精製 Cry j 1 を用いた検討】

(1) スギ花粉からの Cry j 1 の精製

Cry j 1 の分子量が 45 kDa である点に注目し、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で 4°C、1 時間の条件でスギ花粉から抽出後、100 kDa および 30 kDa のアミコンウルトラを用いて抽出粗液を限外濾過することで、Cry j 1 の粗精製を行った。精製した Cry j 1 は ELISA により定量した。

(2) Cry j 1 修飾リポソームの作製

基本となるリポソームには、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) とコレステロールがモル比で 2 : 1 の組成となるものを用いた。次に Cry j 1 のリポソームへの修飾にあたり、リンカー分子として DSPE-PEG-NHS を選択し、65°C、800 rpm、15 分攪拌することで、リポソーム表面に修飾した。さらに粗精製した Cry j 1 を添加し、室温で 12 時間攪拌することで、Cry j 1 をリ

ポソームに付与した。Sephrose 4 Fast Flow™ によるゲルろ過後、HPLC を用いて Cry j 1 の測定を行った。またゼータサイザー ナノ ZS により、粒度分布およびゼータ電位を測定した。さらにピアコア 2000 を用いて、リポソームと抗 Cry j 1 抗体との結合性を解析した。一方、治療に向けた製剤として、細胞障害性薬物であるドキシソルビシンを内封した Cry j 1 修飾リポソームの調製を行った。ドキシソルビシンの封入は、クエン酸緩衝液 (pH 4.0) を用いたリモートローディング法により行った。

(3) 免疫担当細胞への標的性

まず、³H]Cholesteryl dexamethyl ether で放射標識した Cry j 1 修飾リポソームを調製し、Day 0 および Day 4 に Cry j 1/Alum の腹腔内投与により感作したマウスにリポソームを尾静脈内投与 (Day 13) した後の体内動態の測定を行った。さらに DiIC₁₈ にて蛍光標識した Cry j 1 修飾リポソームを調製し、同マウスに尾静脈内投与後 (Day 13) の脾臓におけるリポソームの分布を、共焦点レーザー顕微鏡により観察を行った。またその際、脾臓中の B 細胞および胚中心の免疫蛍光染色も行った。

(4) スギ花粉症モデルマウスに対する治療

Day 0 および Day 4 に Cry j 1/Alum の腹腔内投与により感作し、さらに Day 12-14 に Cry j 1/コレラトキシンを経鼻投与することで追加免疫を行ったスギ花粉症モデルマウスに、ドキシソルビシン内封 Cry j 1 修飾リポソームをドキシソルビシン投与量として 0.2 mg/kg/day となるように尾静脈内投与 (Day 20 および Day 22) した際の、スギ花粉症治療効果について検討を行った。治療効果の指標としては、リポソーム処置後の Day 25-30 に、Cry j 1/コレラトキシンの経鼻投与による追加免疫をし、Day 39 に血清中の Cry j 1 特異的 IgE 抗体量を ELISA により測定することで行った。また、花粉症症状の改善効果については、追加免疫の最終日である Day 29 にマウスの鼻搔き行動ならびにくしゃみの回数を測定することにより行った。さらに長期的な治療効果を評価するために、Day 83-85 に追加免疫を行った後の Day 88 における血清中の Cry j 1 特異的 IgE 抗体量の測定を行った。一方で、リポソーム投与による脾臓におけるアポトーシス細胞を同定するために、脾臓切片の TUNEL 染色および胚中心染色を行い、分布観察を行った。

【B. 高精製 Cry j 1 を用いた検討】

(1) スギ花粉からの Cry j 1 の精製

スギ花粉 1 g に PBS 20 mL を加え、4°C、1 時間の抽出操作を 2 回繰り返し、得られた抽出液を Cry j 1 特異的抗体を結合させたアフィニティーカラムに供することによって精製した。

(2) Cry j 1 修飾リポソームの作製

リポソームへの安定した Cry j 1 修飾を目

指し、プレインサーションによって DSPE-PEG-COOH をリポソームに挿入した後、EDC と Sulfo-NHS を用いて活性化させたものに、Cry j 1 を付与する方法を用いた。得られたリポソームの抗 Cry j 1 抗体への結合性については、ビアコアにより評価した。またドキソルビシンの内封については、より安定に薬物を保持することが可能な、硫酸アンモニウムを用いたリモートローディング法を利用した。

(3) 免疫担当細胞への標的性

精製した Cry j 1 をマウスの腹腔内に投与して感作した際の、脾臓中の Cry j 1 認識 B 細胞の割合をフローサイトメトリー (FACS) により解析した。次に DiOC₁₈ で蛍光標識した Cry j 1 修飾リポソームを調製し、脾臓 B 細胞への取り込みについて FACS 解析を行った。また Cry j 1 で感作したマウスの脾臓におけるリポソームの分布についても、前述の方法と同様に行った。

(4) スギ花粉症モデルマウスに対する治療

Day 0 および Day 7 に Cry j 1/Alum の腹腔内投与により感作したマウスに、Day 19, 21 にドキソルビシン内封 Cry j 1 修飾リポソームをドキソルビシン投与量として 0.2 mg/kg/day となるように尾静脈内投与 (Day 20 および Day 22) した際のスギ花粉症治療効果について検討を行った。治療効果の指標としては、リポソーム処置後の Day 23-27 に、Cry j 1/コレラトキシンの経鼻投与による追加免疫をし、その後の血清中の Cry j 1 特異的 IgE 抗体量ならびに、追加免疫の最終日である Day 27 にくしゃみの回数を測定することにより行った。また抗原特異的な治療効果を評価するために、Cry j 1 および卵白アルブミン OVA の共感作マウスを作製し、ドキソルビシン内封 Cry j 1 修飾リポソームおよび OVA 修飾リポソームを投与した際の、それぞれの治療効果を調べた。

4. 研究成果

A. 粗精製 Cry j 1 を用いた検討

(1) スギ花粉からの Cry j 1 の精製

ELISA による Cry j 1 測定の結果、スギ花粉 3 g から約 500 μg、精製度約 50% の Cry j 1 粗精製液を得ることに成功した (Table 1)。

Table 1. Purification of Cry j 1 from Japanese Cedar Pollen

	PBS extract	100 kDa retentate	100 kDa elution	30 kDa retentate	30 kDa elution
Cry j 1 (μg)	805 ± 152	74 ± 77	544 ± 159	508 ± 22	46 ± 87
Protein (μg)	84616 ± 14395	274 ± 71	74241 ± 18006	1078 ± 67	74941 ± 11918
Purity (%)	1.0 ± 0.2	23.6 ± 19.3	0.7 ± 0.1	47.2 ± 2.4	0.05 ± 0.1

Data represents the mean ± S.D.

(2) Cry j 1 修飾リポソームの作製

DPPE 濃度 40 mM に対して Cry j 1 濃度が 32 μg/mL、修飾率が 8% の Cry j 1 修飾リポソームを調製することに成功した。平均粒子径 130 nm 程度、ゼータ電位はほぼ中性であった (Table 2)。また、高濃度にドキソルビシンを内封した Cry j 1 修飾リポソームの調

製にも成功した (Table 2)。

Table 2. Characterization of Cry j 1-lipo and Cry j 1-LDOX

Sample	Particle size (nm)	ζ-Potential (mV)	Cry j 1 (μg/mL)	DOX (mg/mL)
Cont-lipo	127	-1.5	-	-
Cry j 1-lipo	132	-5.4	32.0	-
Cont-LDOX	104	-6.3	-	1.6
Cry j 1-LDOX	112	-6.7	15.0	1.2

さらにビアコアによる結合解析の結果、Cry j 1 修飾リポソームは抗 Cry j 1 抗体と特異的に結合することが明らかとなった (Fig. 1)。

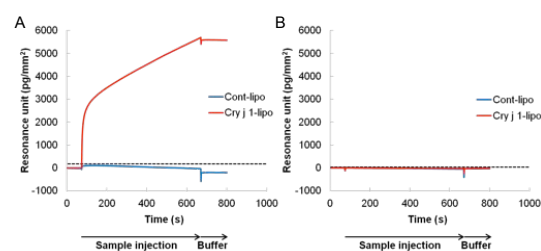


Fig. 1. Binding analysis of liposomes with antibodies

Binding analysis was performed by using Biacore system. Cont-lipo (blue) or Cry j 1-lipo (red) was applied to the sensor chip immobilized with Cry j 1-specific IgG1 (A) and Control IgG1 (B).

(3) 免疫担当細胞への標的性

体内動態解析の結果、リポソームの脾臓への集積は、未修飾のコントロールリポソームおよび Cry j 1 修飾リポソームの間で大きな違いは見られなかった (Fig. 2)。

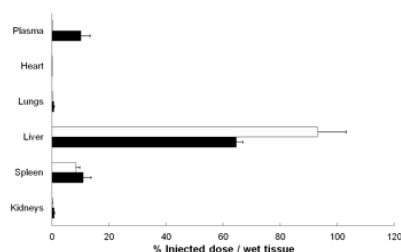


Fig. 2. Biodistribution of Cry j 1-lipo

Thirteen days after first sensitization of Cry j 1 to BALB/c mice, the mice were intravenously injected with [³H]-labeled non-modified liposomes (Cont-lipo, closed column) or Cry j 1-modified liposomes (Cry j 1-lipo, open column) via the tail vein. After 12 h, the radioactivities in each organ and the plasma were determined with a liquid scintillation counter. Data indicated as the percentage of the injected dose / wet tissue with the S.D.

一方で脾臓におけるリポソームの分布について、コントロールリポソームにおいては、B 細胞集団の周囲に多く局在していたのに対し、Cry j 1 修飾リポソームは、B 細胞と共局在している様子が見られた (Fig. 3)。

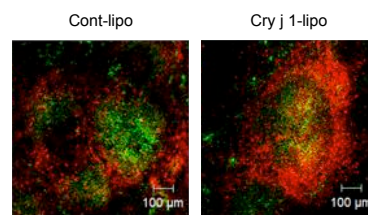


Fig. 3. Localization of Cry j 1-lipo in spleen

Dil-labeled Cont-lipo or Cry j 1-lipo (red) was intravenously injected to Cry j 1-sensitized mice via the tail vein. At 12 h after injection, the spleen slices were prepared and probed with Alexa 488-conjugated anti-mouse IgG for staining of B cells (green). Fluorescence in the spleen was observed using a confocal laser-scanning microscope.

なかでも抗体産生の際として知られる胚中心に、リポソームが取り込まれている様子も観察できた (Fig. 4)。

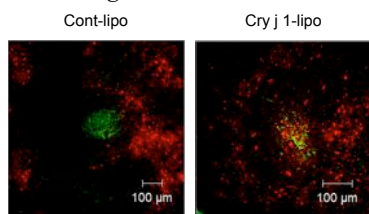


Fig. 4. Localization of Cry j 1-lipo in germinal centers
Dil-labeled Cont-lipo or Cry j 1-lipo in the spleen of Cry j 1-sensitized mice at 12 h after the injection was shown (red). The spleen sections were probed with biotin-conjugated peanut agglutinin for staining of germinal centers (green). The fluorescence was observed using a confocal laser-scanning microscope.

(4) スギ花粉症モデルマウスに対する治療

追加免疫後の Day 39 に血清中抗 Cry j 1 特異的 IgE 抗体量を測定したところ、ドキシソルビシン内封 Cry j 1 修飾リポソーム投与群は対照群と比較して Cry j 1 特異的 IgE 抗体の産生が有意に抑制されていた (Fig. 5)。また鼻掻き行動やくしゃみの回数も最も少ないことが明らかとなった (Fig. 6)。

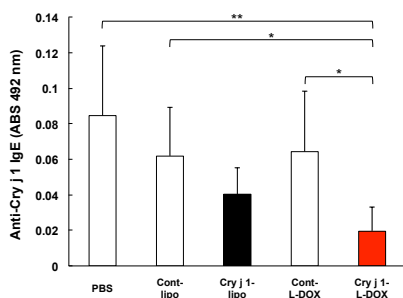


Fig. 5. Suppression of Cry j 1-specific IgE production by the treatment with Cry j 1-LDOX

Mouse models of Japanese cedar pollinosis were intravenously injected with PBS, Cont-lipo, Cry j 1-lipo, Cont-LDOX, or Cry j 1-LDOX (0.2 mg/kg/day as DOX), at days 20, 22 after first sensitization. Then, the boosting was performed by intranasal injection of Cry j 1 (0.5 μg/day) containing cholera toxin (1 μg) from day 25 to 29. To measure the amount of Cry j 1-specific IgE antibody, the blood samples were collected at Day 39. The differences of Cry j 1-specific IgE levels in the blood were shown (*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$).

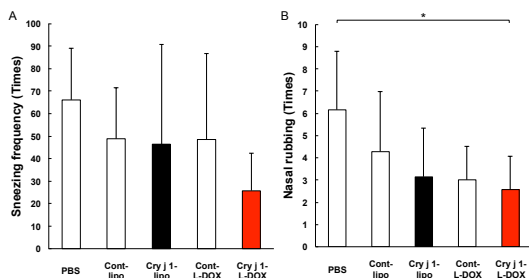


Fig. 6. Alleviation effect of Cry j 1-LDOX for allergic symptoms
Japanese cedar pollinosis model mice were intranasally injected with Cry j 1/Cholera toxin everyday from day 25 to 29 after the treatments with each sample at day 20 and 22. Sneezing frequencies (A) and nasal rubbing (B) were counted at day 29. Significant difference was shown (*; $p < 0.05$).

さらに Day 82 から 3 日間再び追加免疫を行った後、Day 88 に血清中 Cry j 1 特異的 IgE 抗体を測定した結果、ドキシソルビシン内封 Cry j 1 修飾リポソーム投与群は他の群と比

較して、抗体の産生が有意に抑制されていた (Fig. 7)。

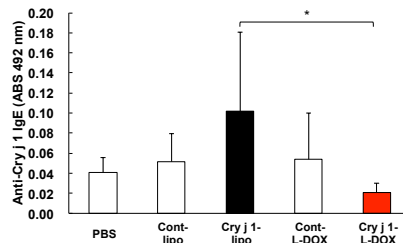


Fig. 7. Long-term suppression of Cry j 1-specific IgE production by the treatment with Cry j 1-LDOX

Japanese cedar pollinosis model mice were treated with each sample at days 20 and 22, and intranasally injected with Cry j 1/Cholera toxin from day 83 to 85. At day 88 after first sensitization, the blood samples were collected and the amount of Cry j 1-specific IgE antibody in the serum was determined by ELISA (*; $p < 0.05$).

また、脾臓におけるアポトーシス細胞を調べたところ、ドキシソルビシン内封 Cry j 1 修飾リポソームの処置により、胚中心において TUNEL 陽性細胞が多く見られた (Fig. 8)。

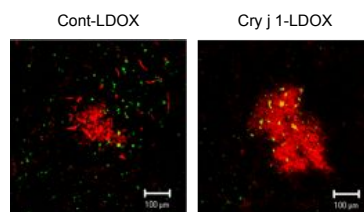


Fig. 8. Induction of apoptotic cell death in splenic germinal center by the treatment with Cry j 1-L-DOX

Cry j 1-sensitized mice were intravenously injected with Cont-LDOX or Cry j 1-LDOX at days 13 and 15 after sensitization. At 24 h after the second injection, the spleen was dissected. Then the spleen section was probed with biotinylated peanut agglutinin for staining of germinal centers (red). Apoptosis cells were detected by using TUNEL staining (green). The fluorescence was observed under a confocal laser-scanning microscope.

B. 高精製 Cry j 1 を用いた検討

(1) スギ花粉からの Cry j 1 の精製

スギ花粉 1 g から量として約 400 μg、精製度ほぼ 100% の高純度な Cry j 1 溶液を得ることができた (Table 3)。

Table 3. Purification of Cry j 1 from Japanese cedar pollen

Data represents the mean \pm S.D.

	PBS extract	Flow-through	Wash	Purified fraction
Cry j 1 (μg)	439 \pm 129	Not detected	6.3 \pm 1.4	385 \pm 57
Protein (μg)	30481 \pm 5526	24972 \pm 5469	1530 \pm 459	247 \pm 50
Purity (%)	1.4 \pm 0.2	23.6 \pm 19.3	0.3 \pm 0.7	\approx 100

(2) Cry j 1 修飾リポソームの作製

様々な条件検討の結果、モル比で DPPC / Cho / DSPE-PEG-COOH / EDC / Sulfo-NHS / Cry j 1 = 10 / 5 / 0.09 / 7.2 / 7.2 / 0.0088 の組成において、最も安定して Cry j 1 を修飾できることを明らかとした (40 mM DPPC に対して 29 μg/mL)。またゼータサイザー測定の結果、平均粒子径 140 nm 程度、ゼータ電位はほぼ中性であった (Table 4)。また得られたリポソームの抗 Cry j 1 抗体への特異的結合もピアコアにより確認できた (Fig. 9)。

Table 4. Characterization of Cry j 1-lip and Cry j 1-lipDOX

Sample	Particle size (nm)	ζ-Potential (mV)	Cry j 1 (μg/mL)	DOX (mg/mL)
Cont-lip	155	-3.8	-	-
Cry j 1-lip	142	-5.8	29.0	-
Cont-lipDOX	101	-5.2	-	0.26
Cry j 1-lipDOX	111	-6.3	26.4	0.29

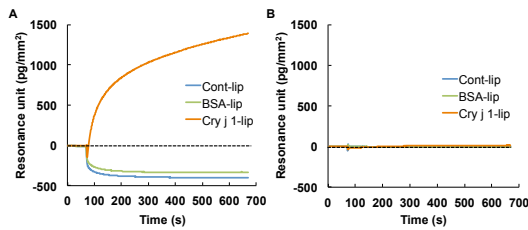


Fig. 9. Binding analysis of liposomes with antibodies

Binding analysis was performed by using Biacore system. Cont-lip (blue), BSA-lip (green), or Cry j 1-lip (orange) was applied to the sensor chip immobilized with Cry j 1-specific IgG1 (A) and Control IgG1 (B).

(3) 免疫担当細胞への標的性

脾臓細胞中の Cry j 1 認識 B 細胞の FACS 解析の結果、Cry j 1 による感作により、その割合が有意に高くなることが明らかとなった (Fig. 10)。

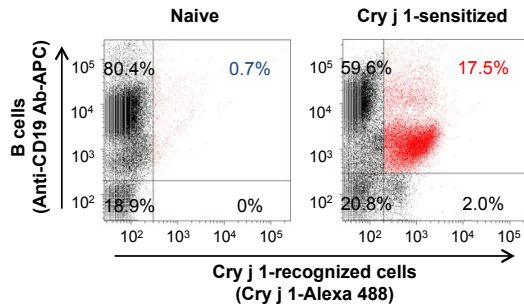


Fig. 10. Population of Cry j 1-recognized B cells in the spleen

Splenocytes derived from naive or Cry j 1-sensitized mouse were cultured for 3 days. Then, the cells were probed with Cry j 1-Alexa Fluor488 and Anti-CD19 antibody-APC conjugate for staining Cry j 1-recognized cells and B cells, respectively. The fluorescent cells were analyzed using a flow cytometer.

また DiO 標識 Cry j 1 修飾リポソームが、Cry j 1 感作マウスの脾臓細胞中の B 細胞により多く取り込まれることも明らかとなった (Fig. 11)。さらに脾臓切片を用いた免疫染色の結果、Cry j 1 修飾リポソームは B 細胞集団に含まれる胚中心と共局在することが明らかとなった (Fig. 12)。

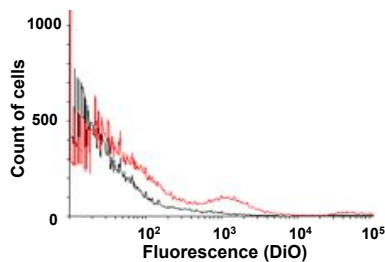


Fig. 11. Uptake of Cry j 1-lip into Cry j 1-sensitized splenocytes

Splenocytes derived from Cry j 1-sensitized mouse were incubated with DiO-labeled Cont-lip (black line) or Cry j 1-lip (red line) for 24 h. The fluorescent cells were analyzed using a flow cytometer.

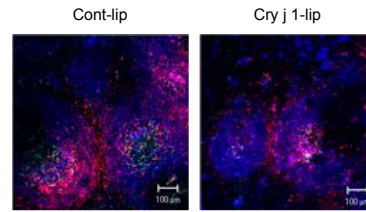


Fig. 12. Localization of Cry j 1-lip in germinal centers

Dil-labeled Cont-lip or Cry j 1-lip in the spleen in Cry j 1-sensitized mice at 12 h after the injection was shown (red). The spleen sections were probed with anti-mouse IgG antibody-Alexa Fluor 405 conjugate and biotin-conjugated peanut agglutinin for staining of B cells (blue) and germinal centers (green), respectively. The fluorescence was observed using a confocal laser-scanning microscope.

(4) スギ花粉症モデルマウスを用いた治療
追加免疫後の Day 28 に血清中抗 Cry j 1 IgE 抗体量を測定したところ、ドキシソルピシン内封 Cry j 1 修飾リポソーム投与群は対照群と比較して Cry j 1 特異的 IgE 抗体の産生およびくしゃみの回数が抑えられていることが明らかとなった (Fig. 13)。

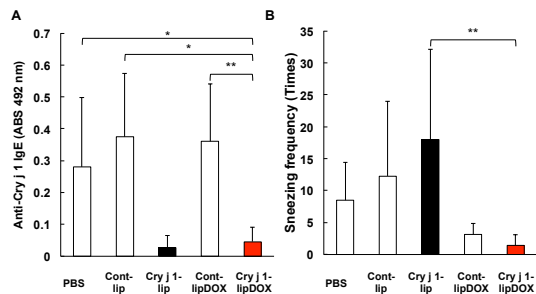


Fig. 13. Suppression of Cry j 1-specific IgE production by treatment with Cry j 1-lipDOX

Mouse models of Japanese cedar pollinosis were intravenously injected with PBS, Cont-lipo, Cry j 1-lipo, Cont-LDOX, or Cry j 1-LDOX (0.2 mg/kg/day as DOX), at days 19, 21 after first sensitization. Then, the boosting was performed by intranasal injection of Cry j 1 (0.5 μg/day) containing cholera toxin (1 μg) from day 23 to 27. To measure the amount of Cry j 1-specific IgE antibody, the blood samples were collected at Day 28 (A). Sneezes were counted for 10 min after the last challenge (B). Significant differences were shown (*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$).

さらに Cry j 1 と OVA の共感作マウスに対しては、ドキシソルピシン内封 Cry j 1 修飾リポソームの投与により、抗 Cry j 1 IgE 抗体量が、ドキシソルピシン内封 OVA 修飾リポソームの投与により抗 OVA IgE 抗体量がそれぞれ減少することを明らかとした (Fig. 14)。

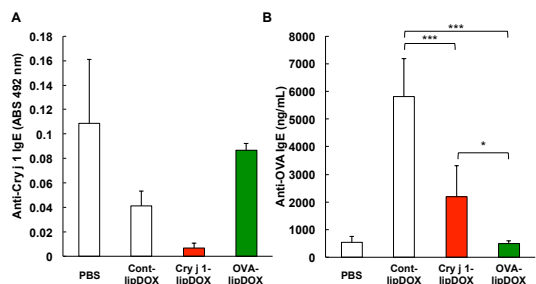


Fig. 14. Suppression of antigen specific IgE production by treatment with antigen-modified liposomal DOX

Mice sensitized with Cry j 1 and OVA were injected with PBS, Cont-lipDOX, Cry j 1-lipDOX, or OVA-lipDOX at days 19, 21 after first sensitization. Then, the boosting was performed by intranasal injections of Cry j 1 (0.5 μg/day) and OVA (0.5 μg/day) from day 23 to 27. The blood samples were collected at day 28 and the amounts of Cry j 1-specific IgE antibody (A), or OVA-specific IgE antibody (B) was determined by ELISA. Significant differences were shown (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$).

これらの結果より、Cry j 1 修飾リポソームは脾臓内の抗体産生 B 細胞を標的とし、内封する薬物により細胞障害を強く誘導することで、抗 Cry j 1 抗体の産生さらにはスギ花粉症症状を、有効かつ長期的に抑えることが示された。逆標的化を利用して抗原特異的な免疫細胞を障害する本治療戦略は、スギ花粉症発症の長期的な抑制が期待でき、その有用性が示された。

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 2 件)

1. Kanae Ichikawa, Tomohiro Asai, Kosuke Shimizu, Sei Yonezawa, Takeo Urakami, Haruna Miyauchi, Hiroto Kawashima, Tatsuhiko Ishida, Hiroshi Kiwada, Naoto Oku: Suppression of immune response by antigen-modified liposomes encapsulating model agents: A novel strategy for the treatment of allergy., *J Control Release*, 167, 284-289 (2013), 査読有, DOI: 10.1016/j.jconrel.2013.02.002.
2. 清水広介: DDS の理想を追いかけて, 薬剤学, 73, p.171-175 (2013), 査読有, URL: http://www.apstj.jp/publications/yakuz_aigaku/young_researcher_files/73-3-171-175.pdf/view

[学会発表] (計 10 件)

1. 後藤峻吾、清水広介ほか: 抗原修飾リポソームにより脾臓 B 細胞を標的化した新たなスギ花粉治療法の開発, 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2014「静岡県立大学(静岡)」 2014 年 11 月 9 日
2. Daiki Saito, Kosuke Shimizu et al.: RT-DDS: A novel targeting strategy for the treatment of allergy., Liposome Research Days 2014「Copenhagen (Denmark)」 2014 年 8 月 5 日
3. Naoto Oku, Kosuke Shimizu et al.: Reverse targeting DDS for the treatment of immune diseases., Liposome Research Days 2014「Copenhagen (Denmark)」 2014 年 8 月 5 日
4. Kosuke Shimizu et al.: Suppression of allergic responses by specific delivery of a cytotoxic drug to splenic B cells., The 18th Shizuoka Forum on Health and Longevity「グランシップ(静岡)」 2013 年 11 月 1 日
5. Kosuke Shimizu et al.: Suppression of allergic response by antigen-modified liposomes encapsulating cytotoxic

drugs., The 5th Asian Arden Conference「愛知学院大学(名古屋)」 2013 年 8 月 5 日

6. 齊藤大騎、清水広介ほか: スギ花粉症根治を目指した Cryj1 表面修飾リポソームの開発, 第 29 回日本 DDS 学会学術集会「京都テルサ(京都)」 2013 年 7 月 5 日
7. 松木孝太、清水広介ほか: 逆標的化 DDS を利用した新規スギ花粉症治療法の確立, 第 34 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム「京都大学(京都)」 2012 年 11 月 15 日
8. Kosuke Shimizu et al.: Antigen-decorated liposomes for the treatment of allergic diseases., Liposome Research Days 2012「Hangzhou (China)」 2012 年 10 月 9 日
9. Kota Matsuki, Kosuke Shimizu et al.: Development of liposomes for complete cure of Japanese cedar pollinosis., Liposome Research Days 2012「Hangzhou (China)」 2012 年 10 月 9 日
10. 伊藤あゆみ、清水広介ほか: スギ花粉症根治を可能とする免疫細胞標的化リポソームの開発, 第 58 回日本薬学会東海支部総会・大会「静岡県立大学(静岡)」 2012 年 7 月 7 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水広介 (SHIMIZU, Kosuke)

静岡県立大学・薬学部/静岡県立大学大学院・薬食生命科学総合学府薬学研究院・講師

研究者番号: 30423841