

研究概要集2023 目次 【研究開発部】

有望シーズ展開事業

「貼るだけ人工臓臓」プロジェクト

◆ 総括	31
◆ Tuning the Stability of Dioxazaborocanes - A versatile boronic adduct for biomedical applications	38
◆ マイクロニードル製造プロセスの最適化と生体応用に向けた安全性の確認	40
◆ 力学的特性と多孔性を両立するポリエチレン粒子焼結型マイクロニードルの構築	42
◆ 業績	44

貼るだけ人工膵臓プロジェクト

プロジェクトリーダー 松元 亮

【基本構想】

糖尿病は、インスリンの絶対的あるいは相対的な作用不足に起因するため、これに対する最も有効かつ安全な治療法はインスリン療法である。これは、血糖値のモニタリングや個人の生活習慣等に基づいて、即効性から遅効性のインスリン製剤を組み合わせ投与し、血糖値をできる限り正常域にコントロールするものである。一方、インスリン療法は患者の生活の質を著しく損なううえ、意識障害等の重篤な症状に繋がる低血糖の危険性がある。心筋梗塞等の心血管合併症を予防するためには、より精密な血糖コントロールが有効であるが、頻回の低血糖症状はむしろ予後を悪化させる可能性も指摘されている。この急性かつ重篤なリスク（低血糖発作）を避ける結果、実臨床で、十分な血糖コントロールが得られていない。最近では、マイクロコンピューター制御による装着型のインスリンポンプが欧米を中心に普及しつつあるが、あらかじめ設定されたアルゴリズムに従ってインスリンを投与するか基礎分泌相当を供給するに留まり、オーダーメイド医療とはほど遠いものである。従って、より正確かつ連続的にインスリン供給制御が可能な代替技術が強く要請されている。我々は、糖との結合能で知られるボロン酸をキーコンポーネントとし、これを導入した水溶性アクリルアミドゲル構造を最適化することで、生体由来材料やエレクトロニクスを一切用いない上記目的のインスリン供給機構を実証してきた。本プロジェクトでは、究極的な低侵襲性を志向したマイクロニードル融合型（「貼るだけ人工膵臓」）デバイスの開発を進めている。生活習慣病を中心とする非感染性疾患（non-communicable disease: NCD）は世界の医療費の43%を占め、2020年には60%に増加するとともに、全死亡の73%に関与すると予測されている。世界に類を見ない速度で高齢化が進行する本邦では、糖尿病等の生活習慣病が国民医療費の約15%、死亡数割合では約30%を占める。「貼るだけ人工膵臓」の技術は、糖尿病治療におけるアンメットメディカルニーズ（長期的な血糖管理、低血糖の回避、患者負担の軽減）を解決し、「健康寿命」と「平均寿命」の差“ゼロ”の実現を図る革新的な医療技術として期待される。

1. 研究目的

有望シーズ展開事業では、ボロン酸を用いたマイクロニードルの実用化のため、マイクロニードルの構造や製造方法、医学的機能評価を中心的に取り組んできた。具体的な検討項目は以下の通りである。

(1) 小・中・大動物実験用デバイスの開発の開発

順次スケールアップする動物モデルでの評価結果、数理モデル化の結果に基づき、外力からの保護とインスリン供給に最適ナリザーバー構造と挿入補助デバイス（アプリケーション）等周辺技術をパートナー企業と連携して開発する方針として実施した。患者の体重差や異なる病態に対応するためのプロダクト・ラインアップの整備を目指した。また、大量・均一製造プロセスの開発も重要課題の一つであり、滅菌プロセスについては、エチレンオキシド法を第一の候補として検討した。

(2) 放出動態の数理モデル構築

本項目では、外部の専門企業との共同研究により、インスリン放出動態を数理モデル化し、デバイスの形状やサイズなど、大動物（ブタ）およびヒト用デバイスの定量的な設計指針を得ることを目的とした。なお、本項目は、PMDA相談時および米国FDA関係者との面談時にその重要性を

指摘されており、認可申請プロセスにおいて重要な位置付けである。

(3) 医学的機能評価

様々なサイズの動物モデルを用いてデバイスの医学的機能評価を行い、デバイスの段階的なスケールアップと様々な病態適応性の判断を得ることを目的とした。正常および1型糖尿病（ストレプトゾトシン誘導性）モデル動物（マウス、ラット、ブタ）の皮下または表皮にデバイスを留置（貼付）し、血糖値やインスリン値等の血液パラメータ、インスリン標的臓器におけるインスリンシグナル遺伝子発現変化、グルコース負荷試験による急激な血糖上昇に対するデバイスの即応性やインスリン放出挙動、in vivo 共焦点顕微鏡を用いた皮内環境での薬物動態等、多角的に評価することとした。

初年度、文科省・地域エコプロジェクトの中で「プロジェクトの加速化」項目として実施したブタ実験を通じ、プロジェクト開始時からの最大懸案であった「スケール=パワー」や安全性については一定の目処が得られた一方、皮膚刺入性の面での課題が浮き彫りとなった。そこで、これらを解決すべく、2021年度は、デバイスの構造と作製方法を抜本的に見直すこととした。具体的には、多孔性材料と

光重合を組み合わせた新規手法を検討した。前年度までに、マイクロニードルの力学強度の向上と共に装着後の吸水性（放出特性の迅速回復）を顕著に促すポリグリセロール誘導体による添加物材料を開発しており、本年度は特許出願するとともに、上記光重合による新規製造プロセスの開発進展と併せ、その添加剤としての効果を明らかにすることとした。また、光重合プロセスは、量産性の面で大きなメリットを有する一方、一般に、仕込み時の分子濃度（および架橋密度）を大きめに設定しないと十分な成形性が得られないという制約がある。仕込み時の分子濃度が大きくなると、ゲル本来の性質として、放出特性が著しく低下してしまうため、インスリンデリバリーの目的においては重要な課題となる。そこで、このジレンマを克服すべく、デバイス構造、重合条件、反応後の後処理、洗浄条件等を系統的に検討し、刺入性、放出特性、製造効率すべての観点を満たすデバイス製造法の確立を目指した。また、本年度地域エコプロジェクト「加速費」により「テレメトリーシステム」を導入した。本システムでは、無麻酔・非拘束・非採血で3週間程度連続かつリアルタイムでの血糖測定が可能なるものである。今後、新型デバイスの *in vivo* 評価を、ラットを中心に本格化させていく予定であるため、本年度はその予備検討を行い、評価プロトコルの確立を目指した。

(4) 製造プロセスの最適化とプロトタイプの開発

共同研究先企業と協議の上、マイクロニードルの製造方法としては、量産性に優れた光重合方式にフォーカスしている。中心的な課題は、「刺入性」、「放出特性」、「製造効率」の全てを高次に満たす製造プロセスの開発である。この目的のため、ゲル重合時の反応条件を最適化するとともに、これまでに開発してきた被覆剤や添加材等を利用して取り組むこととした。

(5) 次世代型徐放性マイクロニードル材料および製造プロセスの開発

デバイスからのインスリン放出性能を最大化することが、デバイスの小型化と持続性の延長につながる。ゲルマイクロニードルでは一般に、低密度化するほど薬物放出性能が向上するが、力学的特性の維持には不利となる。このような二律背反の命題を解決する一つのアプローチとして、スマートゲル内包多孔質 MNs を検討した。具体的には、マイクロニードル先端部でインスリン拡散制御を担うゲル成分と力学的強度を補強する成分との相分離構造を高次に制御することで目的の材料とし、その製造プロセスを最適化した。力学的に強固かつインスリンの拡散性を妨げない共連続構造のマトリックスを活用し、機能部位（ゲルニードル）との層構造とすることで、ニードル一本単位で均一かつ十分な加圧が可能なる構造とする。本検討は、インスリンデリバリーにとどまらず、ワクチン等の薬剤の経皮的デリバリーにおけるアンメットニーズ解決を見据えたものである。

2. 研究成果

以下に挙げるのは、有望シーズ展開事業（2019～2022年

度）の具体的な研究成果である。

インスリン放出挙動が温度に依存しないマイクロニードルの開発

マイクロニードルの温度応答性を抑制するために、ゲル組成の最適化を行った。具体的には、「主鎖」、「ボロン酸ユニット」、ネットワーク全体の親水性の向上とともにボロン酸ユニットとの分子内架橋度を調節する目的で導入した「水酸基含有ユニット」からなる3元共重合体ゲルを様々な組成で調整し、それらの相図を評価することで最適組成を探索した。従来型（温度依存型）のマイクロニードルと同様に多孔性の構造を有し、温度依存性が顕著に抑制されたゲル組成を見出した（図1）。

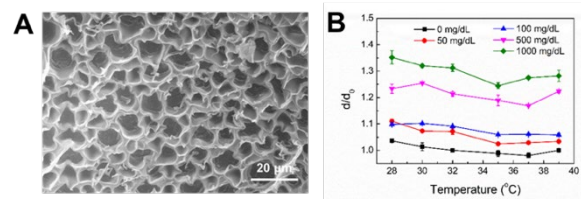


図1. (A) ゲル断面のSEM画像、(B) ゲルの相図。

生分解性ポリマー被覆によりマイクロニードルの力学的強度を向上させる手法の開発

マイクロニードルの皮膚刺入時の力学的強度を一時的に向上させることを目的とし、これを生分解性ポリマーの被覆により達成する手法を検討した。具体的には、可視化のための蛍光物質ローダミン B を含むポリビニルアルコール（PVA、分子量：89-98 kDa）溶液をマイクロニードルに添加し、蛍光顕微鏡により観察した（図2）。マイクロニードルへの PVA 溶液の添加回数に応じて被覆の厚みと力学強度が線形に増大した。ニードル形状保存性の観点も考慮して最適な添加回数を決定した。また、当該 PVA 被覆は生理食塩水中で 30 分程度で溶解することで下地のゲル本来の特性が迅速に回復することを確かめた。本手法の開発により、ゲル単独ではマイクロニードルとしての力学的強度が乏しい場合にも、簡便な操作でこれを解決する手法を確立した。

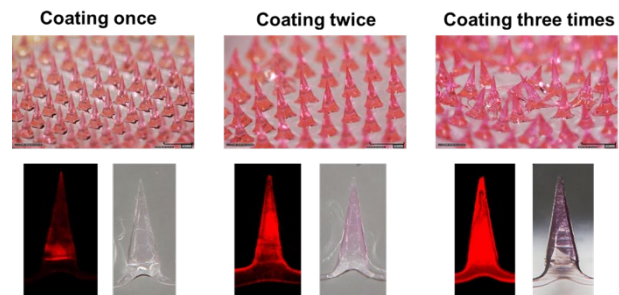


図2. マイクロニードルへの PVA 溶液添加後の共焦点顕微鏡像。

皮下環境下でのインスリン動態の評価

生体組織は光透過性が低いため、通常は固定後に薄切をほどこして組織学的な解析を行うが、処理に伴う変化や3次元情報が失われてしまうといった点が問題になる。組織透明化技術は組織内部まで構造を維持したまま観察が可能であるが、処理に時間がかかり、薬剤動態を捉えるような実験には適さない。組織の表面であれば共焦点あるいは多光子顕微鏡を用いて組織内部を観察可能な場合があるため、様々な蛍光プローブを利用し、皮膚におけるインスリン放出を捉える方法を検証した。マイクロニードル側からの観察はそれ自体の厚みや色調によって観察の障壁となるため、本年度は皮下脂肪側からのアプローチを検討した。その結果、*ex vivo*・*in vivo*いずれの条件においても生体の皮膚組織内部を共焦点顕微鏡によって観察可能であることを明らかにした。

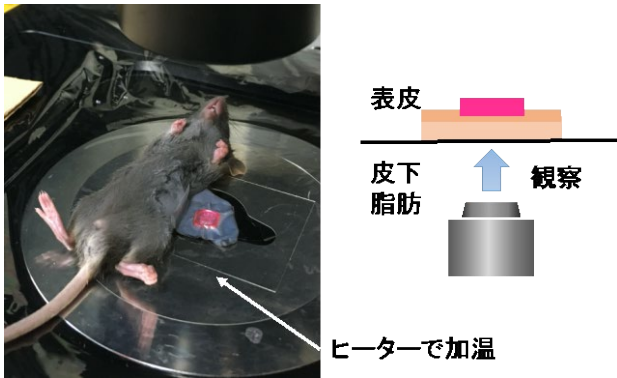


図3. In vivo 共焦点顕微鏡観察の様子.

糖尿病モデルブタでの機能評価

内因性インスリンがほぼ枯渇した重症1型糖尿病モデル3頭に対して、インスリン含有デバイスを皮下留置したところ、2頭で明らかな効果を確認したものの、血糖コントロールは不安定であり、7日後までには効果が消失した。中程度（およそ400 mg/dL）の高血糖を呈した3頭に対してインスリン含有デバイスを装着したところ、皮下留置では顕著に血糖値が低下し、効果が7日後まで持続したのに対し、皮膚貼付では弱い効果にとどまった。これらの結果は、持続血糖モニタリング装置（FreeStyle リブレ）でも確認され、デバイスは、食事や日内リズムに関係なく、安定した血糖コントロールをもたらした。一方、ほぼ正常血糖を呈したブタ2頭に対してインスリン含有デバイスを装着したところ、初期の一過性低血糖を除いて、血糖値は概ね正常範囲内に維持され、デバイスからの血糖依存性インスリン放出が確認できた。さらに装着7日後に、生体適合性を確認したところ、病理組織像では、皮下留置群において明らかなマイクロニードルの刺入が確認でき、末梢白血球数はデバイス装着の前後でほぼ同程度であった。これに対して、皮膚貼付群では、血糖改善効果が認められなかった。血清インスリン量は、これらの結果に合致する結果が得られた。以上の結果より、プロジェクト開始時から

の最大懸案であったヒト体重規模でのパワー（放出量）確保や安全性については一定の目処が立った一方、皮膚刺入性については課題が浮き彫りとなった。



図4. ブタ実験の様子.

デバイスの小型化・週単位の持続性・皮下刺入性を確保するために必要な構造改変と周辺技術の開発

多孔性材料と光重合を組み合わせた新規手法を開発し、皮膚刺入性と作製効率を格段に向上させることに成功した。多孔性材料としては、市販の焼結多孔体ポリエチレンシート（旭化成サンファイン）を用いた。図5に示すように、当該多孔体シートは人の力ではほぼ外力変形しないため、ゲルニードル部分との二層構造とすることで、添付時の加圧を容易に行うことができる。実際、ラットでの皮膚刺入性を評価したところ（図6）、従来のデバイスと異なり、皮膚への刺入・固定は良好で、乾燥によるマイクロニードル先端部、およびリザーバー部の変形も認められなかった。また、皮膚穿刺部位には刺入跡が明瞭に観察されたが、2日後には外観上はほぼ消失しており、皮膚刺入部の速やかな回復が示唆された。また、当該多孔体は50%以上の気孔率を有するため、この部分をインスリンリザーバーとして活用することができる。さらに、ゲル相との共存領域を設けることで互いが強固に接着され、ニードル基底面の変形も強力に抑制される。一般に、ゲルニードルのアプローチでは、この水和に伴う構造変形がボトルネックであり、我々が考案した方式は、この点をスマートに解決するものである。

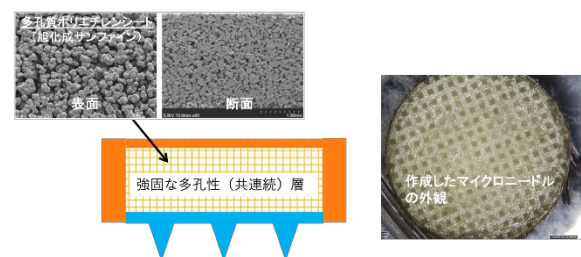


図5. 多孔性材料と光重合を組み合わせた新規デバイス.

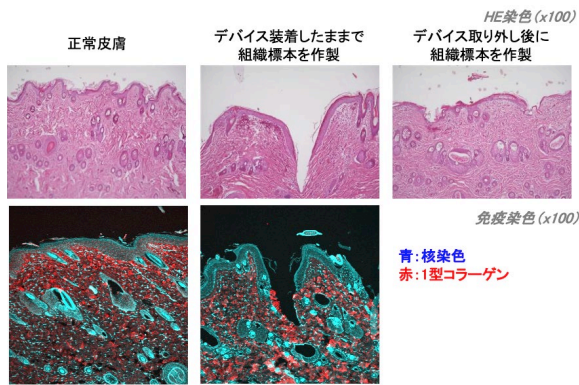


図 6. 皮膚刺入部の病理組織学的評価.

刺入性、放出特性、製造効率を満足するデバイス製造方法の検討

上で述べた光重合による製造方式は、従来の熱や酸化還元反応型の方式と比べて、製造効率の面で大きな優位性がある。連携企業からの要望も考慮して、この方式を集中的に検討することとした。ただし、光重合（ラジカル重合）方式では、一般に、仕込み時のモノマーおよび架橋剤濃度を比較的大きく設定しないと、十分な成形性が得られないという制約がある。結果的に、ゲル内部の分子ネットワークが混み合い（編み目のサイズが小さくなり）、ゲル中での溶質（インスリン）の透過性が著しく低下してしまう。理論的には、分子・架橋密度が高く、ゲルの含水率（H）が小さくなると、その逆数（1/H）に比例して、ゲル中での溶質の見かけの拡散係数は指数関数的に減少することが知られている。我々は、ラジカル重合時の（モノマー）/（開始剤）比率や多孔体シートの厚み等のパラメータを最適化することで、「低分子密度」と「成形性」を両立したマイクロニードル製造プロトコルを確立した。

テレメトリーシステムを用いたリアルタイム血糖測定システムの導入と予備検討

デバイスを皮膚に貼付後、どの程度のタイムラグで効果が発揮されるか、また糖尿病合併症の主要な原因となる血糖日内変動に対してデバイスが有効性を示すかなどは、臨床応用時に非常に重要な観点となる。そこで本年度、追加予算を得てテレメトリーシステム（米国 DSI 社、図 7）を新たに導入し、血糖値のリアルタイム連続測定を実施した。血糖値センサーは SD ラットの腹部大動脈内、送信器は腹部皮下に留置し、比較検討のため、背部皮膚に FreeStyle リブレ Pro を貼付した（図 8）。

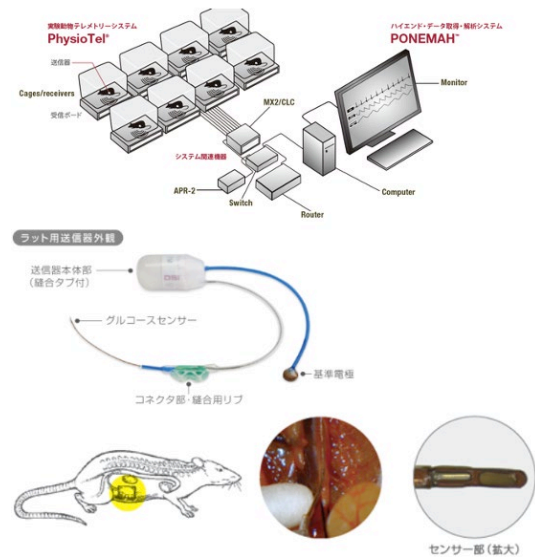


図 7. テレメトリーシステムの概要.

グルコースを腹腔内投与したところ、テレメトリーシステム（動脈血）、FreeStyle リブレ Pro（皮下間質液）、尾静脈採血（静脈血）のいずれの方法においても、一過性の血糖上昇を観察した。テレメトリーシステムの利点として、リアルタイムに連続測定が可能なこと、2~3 週間の長期データの取得が可能なこと、採血不要でラットのストレスがないことなどが挙げられる（図 8）。次に、ストレプトゾトシン（STZ）投与による 1 型糖尿病モデルを用いて、テレメトリーシステムと FreeStyle リブレ Pro、間欠的静脈採血の比較を行った。テレメトリーシステムでは、STZ 投与後に軽度の血糖上昇、β細胞破壊に伴うインスリン放出が誘導する低血糖を経て、24 時間後までに 500 mg/dl 程度の高

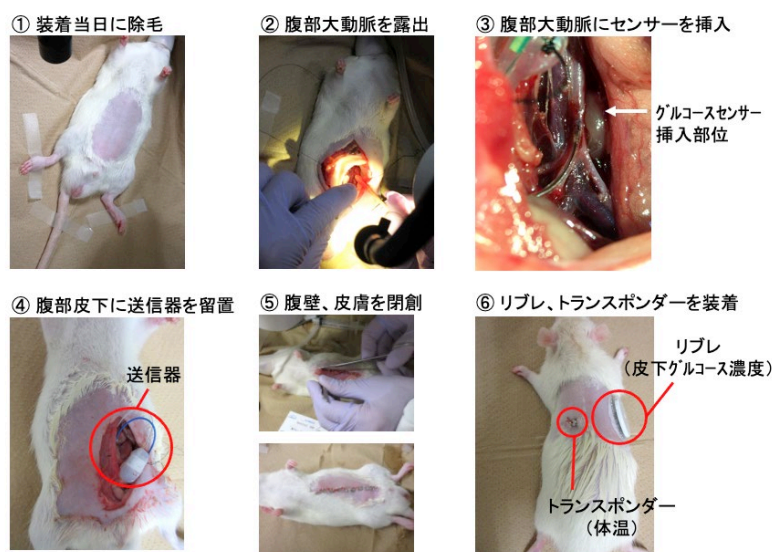


図 8. テレメトリー送信器の装着.

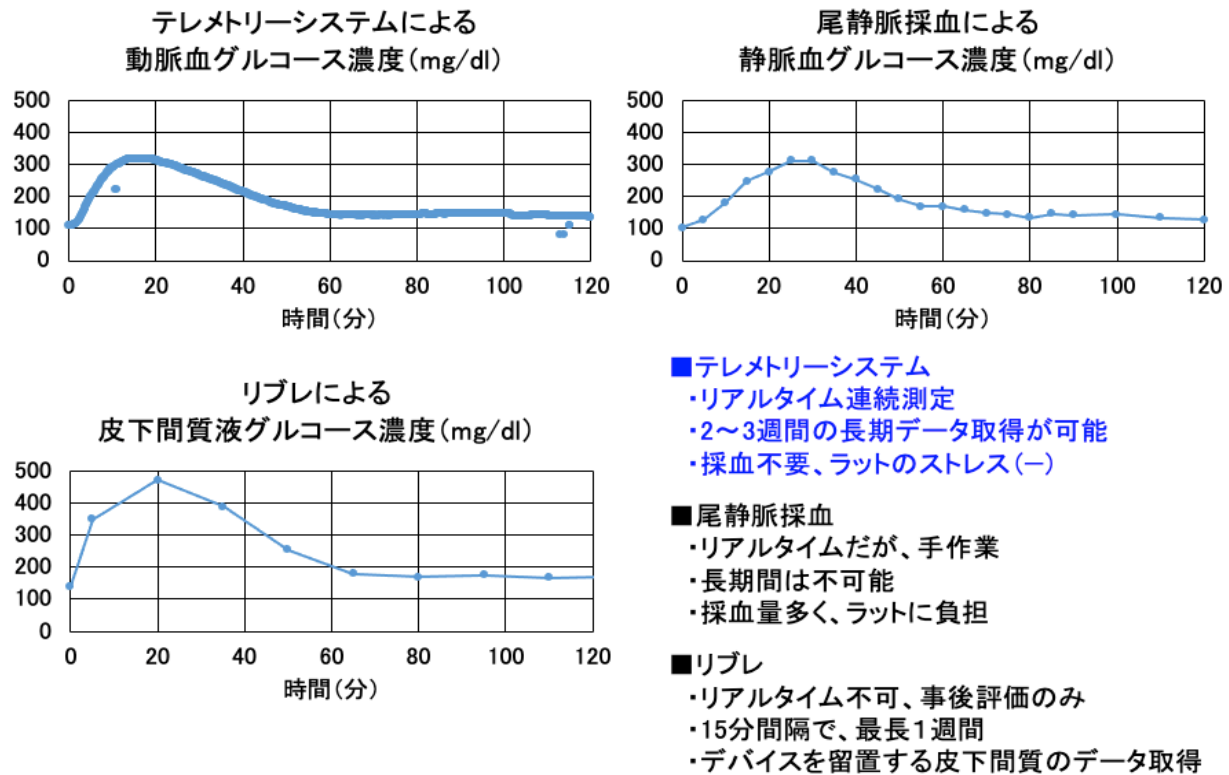


図 9. グルコース付加試験における血糖値変化.

血糖を呈した。同様の血糖変動パターンは FreeStyle リブレ Pro でも観察されたが、測定上限が 500 mg/dl のため、重症高血糖個体では測定が困難になる。間欠的静脈採血では、1~2 回/日の測定に止まるため、血糖変動パターンは明らかにすることはできない。さらに、テレメトリーシステムを用いて、日内変動の評価を行った (図 9)。ラットは夜行性のため、活動期の夜間に摂餌する。正常ラットでは、摂餌や活動量に関係なく血糖値はほぼ一定に保たれるが、糖尿病ラットでは、夜間 (活動期) に高く、昼間 (非活動期) に低い明確な日内変動パターンを示すことを確認した。

リアルタイム機能評価と穿刺性評価法の確立

2021 年度までに、テレメトリーシステムを導入し、ラットの血糖値をストレスフリーに 24 時間リアルタイムにモニタリングできるシステムを確立していた。今年度は、血糖日内変動の把握に加え、日常診療で一般的に行われているインスリン間欠投与による糖尿病治療を再現し、テレメトリーシステムにより観測する手技を確立した。

本デバイスが十分な効果を発揮するには、表皮バリアを破って留置されるマイクロニードルの表面積が十分に確保される必要があり、穿刺性の向上が重要な課題である。そこで、種々形状のマイクロニードルを用いて皮膚の穿刺性や肉眼的な変化を比較検討した (図 10)。SD ラットの皮膚にデバイスを貼付し、すぐに剥がして 1 時間後まで観察した。その結果、いずれのデバイスも明確な穿刺痕が観察され、1 時間後には概ね消失することが確認された。肉

眼的所見に加えて、角質や上皮のバリア機能を反映する水分蒸散量 TEWL (transepidermal water loss) を計測することで、マイクロニードル穿刺性 (数・深さ) の数値化を試みた^{3,4)}。マウスに対してデバイスを貼付し、その前後で TEWL を測定した。その結果、穿刺の程度 (数・深さ) に応じてこれが再現性良く上昇したことから、TEWL 計測系により、穿刺性を「面」として連続評価することの妥当性が示された。

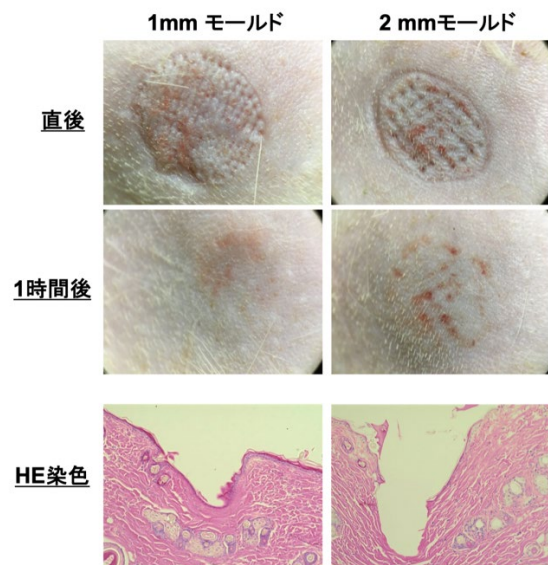


図 10. 針長による穿刺性の違い.

次世代型徐放性マクロニードル材料および製造プロセスの開発

我々の開発したマイクロニードル (MN) では、週レベルでの安定性およびインスリン放出持続性を確認しているが、ゲルマイクロニードル一般において、力学的強度と薬剤放出能の両立が課題である。また近年、インスリンデリバリーに関わらず、免疫治療の分野で除法型 MN に対するニーズが高まっている。我々は、これらの課題に対し、いくつかのアプローチ (ボトムアップ及びトップダウン成型法) により多孔性 MN 製造技術の開発に取り組んでいる。ここでは、2021 年度に特許出願 (特願 2021-144273) を果たしたボトムアップ型成型法の一例について述べる。貧溶媒中での相分離を介して多孔質構造を形成するポリエーテルスルホン (PES) を用いて力学的特性の優れた多孔質 MN (PES MNs) を作製し、薬剤放出能の高い低密度ボロン酸ゲルを PES MNs に添加し、皮膚刺入後にインスリン放出できるハイブリッド型 MNs (Hybrid MNs) を検討した (図 11)。調製した PES MNs の表面構造を SEM 観察したところ、多数の空隙が確認され、ベンゼン中での PES の相分離に伴う多孔質構造の形成が確認された。また、PES の相分離速度の制御に向けて PES 濃度とベンゼン濃度を最適化することで、PES MNs のニードル部分の成形性が高まった。その後、PES MNs 表面の親水化およびボロン酸モノマー含有ブリゲル溶液の添加により Hybrid MNs を作製し、最大応力をボンドテスターボンドテスターにより評価したところ、ボロン酸ゲルと多孔質 PES のハイブリッド化により力学的特性が大幅に向上した。ここで、乾燥前後の Hybrid MNs に関して最大応力が変化しなかったことから、内包したゲルの水和率に依存することなく力学的強度が維持されることを確認した。その結果、マウス皮膚に対して優れた刺入性を示した。さらに、異なるグルコース濃度における Hybrid MNs からの蛍光標識インスリンの放出を共焦点顕微鏡により評価したところ、グルコース依存的なインスリン放出も確認された。以上より、力学的

強度と薬剤放出能を両立した Hybrid MNs の妥当性を示した。

3. 今後の展望

初年度より、「小・中・大動物実験用デバイスの開発」、「放出動態の数理モデル構築」、「ex vivo および in vivo 評価系の開発」、「医学的機能評価」に取り組んだ。共焦点顕微鏡を利用した評価系は、高い学術性に加え、今後実施するデバイスのブラッシュアップ作業において中心的な評価プラットフォームとして利用できる水準で達成した。2020 年度より着手予定としていたブタモデルでの実験を半年前倒して年度 10 月より着手する方針に変更した。本項目は、文科省・地域エコプロジェクトの中で「プロジェクトの加速化」に寄与するものと認められ、追加予算が処置されて実施したものである。これに伴い、いくつかの変更点および追加の検討課題が生じたが、連携企業らの協力を得て遂行することができた。ブタ実験を通じ、本技術の「現在地」と課題について明確に認識することができた。すなわち、プロジェクト開始時からの最大懸案であった「スケール=パワー」や安全性については一定の目処が立った一方、皮膚刺入性については困難が浮き彫りとなった。これらの課題について、連携企業と協力して解決してきた。これらの成果を踏まえ、現在 AMED プロジェクトへの申請準備中である。関係機関が団結して、量産型マイクロニードル製品のプロトタイプ完成、安全性データの把握、探索的臨床試験プロトコル案策定等、採択への課題解決に向け取り組んでいる。既に、外部専門機関を通じた毒性試験、皮膚刺激性試験、連携企業を主導した PMDA 全般相談を完了している。量産型プロトタイプを目処を早期に立て、製造プロセスの精緻化を進めつつ、探索的臨床試験の準備完了へ向けて開発を加速していきたい。

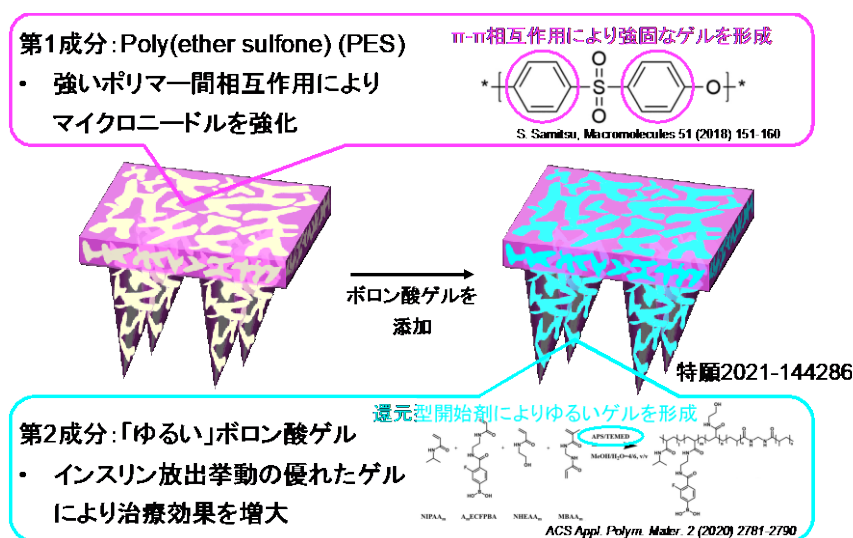


図 11. PES ハイブリッド型 MN.

Tuning the Stability of Dioxazaborocanes - A versatile boronic adduct for biomedical applications

「貼るだけ人工臓臓」プロジェクト

Barthelmes Kevin

1. Introduction

Generally, classical boronic esters of 1,2- or 1,3-diols suffer from thermodynamic instability in an aqueous environment. For this purpose, new boronic adducts have been developed and their stability under physiological conditions significantly improved. Frequently used boronic adducts are salicylhydroxamic acid-phenylboronic acids (SHA-PBA) [1], iminoboronates (IB) [2], oxime-boronates (OB) [3] and diazaborine (DB) [4] (Figure 1). These compounds can be efficiently formed at neutral pH and readily hydrolyze under acidic conditions. For that reason, they can be considered as dynamic covalent bonds with click chemistry features. Moreover, SHA-PBA, OB and DB can extraordinarily tolerate biological functional groups, like saccharides, glutathione, lysozyme or human serum. This kind of moieties have been incorporated into polymers or proteins to form pH-responsive drug delivery systems, self-healing materials or bioconjugates. [5-6]

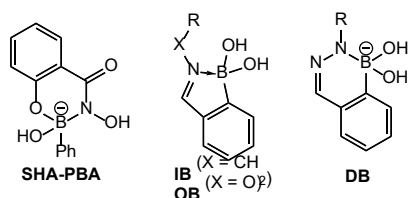


Figure 1. Boron adducts featuring dynamic click chemistry.

In this report, we investigated dioxazaborocanes (DOAB) as an alternative type of boron adducts for this purpose. Moreover, the glucose-responsiveness was analyzed for a potential application in a glucose-sensitive insulin system.

1.1 Dioxazaborocanes

The condensation reaction of non-toxic diethanolamine (DEA) with boronic acids (BA) leads to the bicyclic DOAB structure (Figure 2). The neutral moiety consists of a dative N-B bond that thermodynamically stabilize the boron adduct. They were first described in the mid-1950's as a practical way to isolate a boronic acids. Their synthesis is easy to carry out and high-yielding. In fact, dehydration agents or a Dean-Stark apparatus is not required, as it is commonly used for boronate esters of 1,2-diols or methyliminodiacetic acid (MIDA). [7]

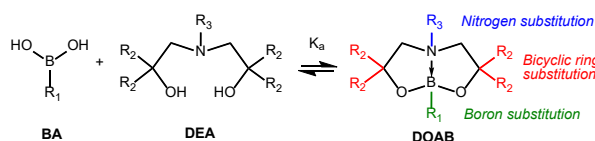


Figure 2. Equilibrium reaction of DOAB in aqueous solution and substitution positions.

2. Results and discussion

A variety of different substituted DOABs were prepared by mixing DEA and BA derivatives in organic solvents and then crystallizing them (Figure 2). The resulting boron adducts were analyzed by NMR in aqueous solution at different pH values and their stability and hydrolysis speed was estimated in terms of the association constant (K_a) and the rate constant, respectively.

2.1 Tuning the stability

The K_a vs. pH plot revealed a bell-shaped relation which follows the theoretical maximum (pH_{max}) calculated by the median of the $\text{p}K_a$ values of the corresponding BA and DEA derivatives (Figure 3). Due to this behavior, pH_{max} could be precisely shifted in a wide range by choosing different acidic BA and DEA derivatives.

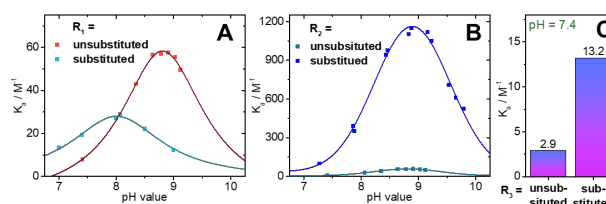


Figure 3. K_a vs. pH value relation of DOAB for different boron (A), bicyclic ring (B) and nitrogen (pH 7.4) substituents (C).

We investigated substituents at the boron, the bicyclic ring and the nitrogen proximity. For instance, more acidic boronic acids could shift pH_{max} much closer to the desired physiological pH value of 7.4. (Figure 3A) and the stability could be doubled. Substitution of the bicyclic ring result in an overall higher stability at any pH value (Figure 3B). In fact, the stability at pH_{max} was increased up to 200 times. Substitution on the nitrogen further increased the stability at pH 7.4 around 4 times (Figure 3C).

2.2 Hydrolysis speed

We investigated the kinetics of the equilibrium reaction of DOAB in order to get more knowledge about the dissociation mechanism. ^1H NMR technique was used to study the hydrolysis reaction at different time intervals. Especially substitution on the bicyclic ring significantly decreased the hydrolysis rate constant up to a factor of 10^8 . Interestingly, this doesn't result in a very high association constant like it is common for equilibrium reactions with very slow reverse rate constants. For this reason, the apparent association constant $K_{a,t}$ (i.e., binding strength at a certain time interval) has a very wide range ($K_{a,t} = 10^6$ to 10^2 M^{-1}) (Figure 4A), and thus a unique complex dissociation up to reaching the equilibrium state was observed. For example, these DOAB compounds feature a similar binding strength as SHA-PBA within the first few hours of hydrolysis and become much weaker up to the equilibrium state is formed (~2 weeks).

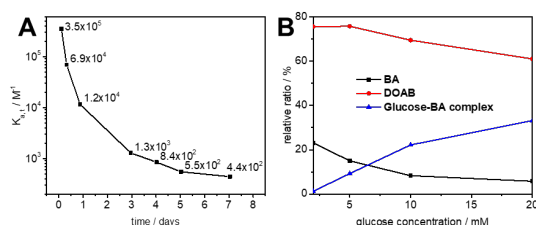


Figure 4. (A) Apparent association constant of R_2 -substituted DOAB at different time intervals. (B) Glucose-concentration depend DOAB dissociation.

2.3 Glucose-responsiveness

We investigated DOAB for their glucose-sensing capabilities. For this purpose, different amount of glucose was added to an aqueous solution of DOAB at pH 7.4. The ratio between BA, DOAB and the formed Glucose-BA complex was estimated by ^{11}B NMR (Figure 4B). Under normal blood glucose concentration (<5 mM) only few of the DOAB is dissociated and the Glucose-BA complex mainly result from free BA formed by the DOAB equilibrium reaction. Upon increasing to hyperglycemic blood glucose concentration (5-20 mM) DOAB start to dissociate, however, the BA ratio doesn't increase, which means that the formed Glucose-BA complex is caused by exchange reaction. This result clearly shows the glucose responsiveness of DOAB, which can be explained by a similar binding strength of DEA and glucose with BA.

2.4 Hydrogel with dynamic covalent crosslinks

We were interested in how the dissociation of DOAB can perform in a polymer network. For that reason, we successfully functionalized DEA and BA with polymerizable groups and prepared copolymers with dimethylacrylamide (Figure 5A). The polymers are highly water soluble and mixing of the DEA- and BA-containing polymer solutions result in gelation within minutes. The formed hydrogel was stable under neutral to

slightly basic conditions, however addition of HCl or NaOH solutions result in partially decrosslinking and the gel liquified. This Sol-Gel transition could be repeated many times in each direction showing the reversible nature of the crosslinked network (Figure 5B).

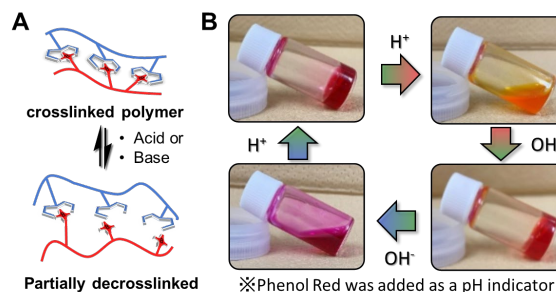


Figure 5. (A) Schematic representation of the dissociation process of a pH-responsive hydrogel with DOAB crosslinks. (B) Reversible Sol-Gel transition of the hydrogel.

3. Conclusion and future plan

The stability and hydrolysis rate of DOAB could be further improved while the reversible nature of the equilibrium reaction remained. In fact, by placing substituents on certain positions a 70 times higher stability at pH 7.4 compared to the unsubstituted DOAB could be achieved. The slow hydrolysis rate of the R_2 -substituted DOAB compounds is of potential interest for a long-term drug release under physiological conditions. Moreover, it was possible to incorporate DOAB as dynamic covalent crosslinker between polymer chains and probe the pH-responsiveness which was macroscopically visualized by a Sol-Gel transition.

We could demonstrate that DOAB is capable to interact with glucose under hyperglycemic conditions by an exchange reaction. This phenomenon is of particular interest for an application in a glucose-responsive insulin.

Our results suggest that DOAB is indeed a potential alternative for boron-based biomedical applications. In the future we want to incorporate the unit into other structures, e.g. proteins or Tetra-PEG gels.

【References】

1. M. L. Stolzowicz *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, **12**, 229 (2001).
2. P. M. S. D. Cal *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 10299 (2012).
3. A. Bandyopadhyay, J. Gao, *Chem. Eur. J.*, **21**, 14748 (2015).
4. O. Dilek, Z. Lei, K. Mukherjee, S. Bane, *Chem. Commun.*, **51**, 16992 (2015).
5. J. P. M. António, R. Russo, C. P. Carvalho, P. M. S. D. Cal, P. M. P. Gois, *Chem. Soc. Rev.*, **48**, 3513 (2019).
6. S. Chatterjee, E. V. Anslyn, A. Bandyopadhyay, *Chem. Sci.*, **12**, 1585 (2021).
7. H. Bonin, T. Delacroix, E. Gras, *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 4714 (2011).

マイクロニードル製造プロセスの最適化と 生体応用に向けた安全性の確認

「貼るだけ人工膵臓」プロジェクト
伊藤 美智子

1. はじめに

本プロジェクトではグルコース応答性を有する高分子ゲルを用いてマイクロニードルを作成し、インスリンを包含させた状態で皮膚に留置することで、自律的・持続的にインスリンを放出する「貼るだけ人工膵臓」の開発に取り組んできた。プロトタイプとしてカテーテル融合型デバイスを作成し、糖尿病モデルマウスにおける血糖改善効果を確認しているが¹⁾、マイクロニードルデバイスでは「刺入性」を担保するための強度と「放出特性」を両立する必要がある。これらを実現し、かつ生産効率を向上を目的として、光重合による高分子ゲル作成法を採用している。今年度はこれまでに確立したゲル組成を基盤として、マイクロニードル構造の改良を進めるとともに、製造工程の最適化と安全性の確認に取り組んだ。

2. 実験と結果

(1) マイクロニードルデバイス洗浄期間の最適化

アクリルアミドモノマー濃度や架橋密度などのゲル組成を最適化しても100%の効率で重合が起きるわけではないため、未反応のモノマーや高分子化しなかったポリマーを水・メタノール混合溶液に浸漬して洗浄する必要がある。ゲル組成中のポロリン酸モノマーが水・メタノールに溶出するため、これまでは洗浄液のpHを指標に洗浄期間を設定していた。具体的には、洗浄開始時にはpHは5.9~6.0であるが、溶液交換を繰り返しながら、pH 6.4以上になるまで5-7日間の洗浄を行ってきた。そこで、洗浄液中のアクリルアミドを定量化することで、生体における安全性を確認するとともに、適切な洗浄期間の設定を試みた。

洗浄に使用した水・メタノール混合溶液を回収し、エバポレーターを用いて試料を濃縮し、重メタノールに溶解後、核磁気共鳴分析装置を用いて洗浄液中の含有物質の解析を行った。2つのタイプのマイクロニードルデバイスについて解析を行ったが、いずれも洗浄後2日以降にはモノマー・ポリマー含有濃度が著明に低下することがわかった(図1)。アメリカ食品医薬品局(FDA)の基準によると、アクリルアミドの生体許容量は $0.36 \mu\text{g}/\text{kg body weight}/\text{day}$ とされており、体重70kgで換算すると $25.2 \mu\text{g}/\text{day}$ となることから²⁾、洗浄3日目で安全域に達することが確認された。また、アクリルアミドは神経毒性や発癌性の問題も指摘されているが、神経毒性を予防するための許容量は $40 \mu\text{g}/\text{kg body weight}/\text{day}$ 以下、発癌リスクは $2.6 \mu\text{g}/\text{kg body}$

weight/day 以下とすることが推奨されており³⁾、いずれも問題のないレベルであることが確認できた。

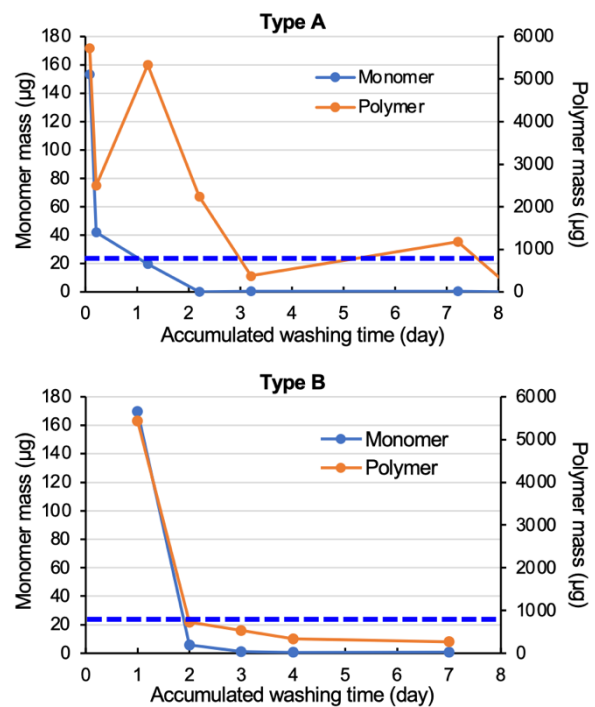


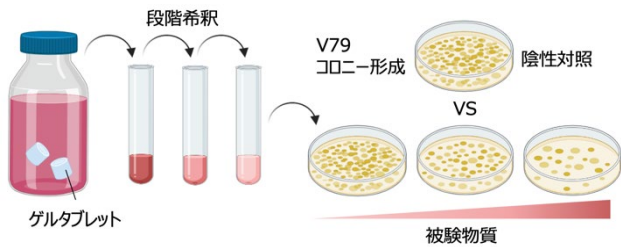
図1. 洗浄液中のモノマー濃度変化
ポリマーはモノマー分子量で換算した。青破線:FDAによる成人(体重70kg)のアクリルアミド生体許容量

(2) ゲルタブレット細胞毒性試験

マイクロニードルデバイスは針が皮内に刺さった状態で約1週間皮内に留置されるため、ゲルタブレットを用いて細胞毒性試験を行った。ゲルタブレットをM05培養液中に37°Cで24時間静置した後に、得られた抽出液を用いてV79培養細胞を用いたコロニー形成試験を行った。被験物質抽出液処理群の相対コロニー形成率は、6.25、12.5、25.0、50.0、75.0及び100%の用量において、それぞれ101、99、95、94、102及び96%と、非処理群(100%)及び陰性対照材料抽出液処理群(100%)と同等であった(図2)。被験物質には、細胞のコロニー形成に対する50%以上の阻害作用が認められなかったことから、細胞毒性強度を示す IC_{50} (%)は求められなかった。

非処理群におけるコロニー形成能(1.01)は0.70以上

と試験成立条件を満たしており、陰性対照材料 C 抽出液処理群のコロニー形成能 (1.01) は非処理群のコロニー形成能 (1.01) と同等であることを確認した。陽性対照材料 A 抽出液処理群では IC₅₀ が 1.04% と 7% 未満、陽性対照材料 B 抽出液処理群では IC₅₀ が 74.8% と 80% 未満であり、試験成立条件に定めた IC₅₀ をそれぞれ満たし、用量反応関係も認められたことから、試験は適切に実施されたものと判断された (株式会社ボゾリサーチセンター)。以上の結果から、ゲルタブレットは V79 培養細胞 V79 に対して、細胞毒性を有さないと結論づけられた。



	非処理群	陰性対照	被験物質 (%)					
			6.25	12.5	25.0	50.0	75.0	100
コロニー形成率 (%)	100	100	101	99	95	94	102	96

図 2. 細胞毒性試験の概要およびコロニー形成率

(3) マイクロニードル皮膚刺激性試験

フェニルボロン酸ゲルマイクロニードルデバイスを単回皮膚に投与した場合の皮膚刺激性について、日本白色種雌ウサギ (T1a:JW) を用いて検討した。刈毛したウサギ 3 匹の背部に左右各 2 箇所、計 4 箇所の健常皮膚 (部位 A、B、C、D) を設け、部位 A 及び D には被験物質 (マイクロニードル面) を、部位 B 及び C には対照としてリント布をそれぞれ 24 時間貼付した。投与終了 (貼付除去) 1、24、48 及び 72 時間後に皮膚反応を観察し、ISO ガイドラインに記載された皮膚反応の採点システムに従って皮膚一次刺激性を評価した。

対照部位では観察期間を通じていずれの動物にも皮膚反応は認められなかったが、被験物質投与部位において、投与終了 1 時間後に紅斑 (評点 1 または 2) が 3/3 例、浮腫 (評点 1 または 2) が 2/3 例で認められた。投与終了 24 時間後には紅斑 (評点 1 または 2) が 2/3 例、浮腫 (評点 1) が 2/3 例で認められた。投与終了 48 および 72 時間後には紅斑 (評点 1) が 2/3 例で認められた。以後、皮膚反応は次第に軽減し、投与 7 日後までにすべて消失した。

投与終了 24、48、72 時間後の結果から得られた被験物質および対照物質における個体別一次炎症点数の平均点はそれぞれ 1.0 及び 0 であり、その差は 1.0 (0.5-1.9) であったことから、炎症反応カテゴリーは「軽度」と評価された (株式会社ボゾリサーチセンター)。これらから認められた皮膚反応は、被験物質投与による影響というよりも、マイクロニードルの刺創に起因した変化である可能性が示唆された。

表. 皮膚反応の評価付けシステム

紅斑及び痂皮の形成	
紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑からわずかな痂皮の形成 (深部損傷まで)	4
【最高点 4 点】	
浮腫の形成	
浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫 (かろうじて識別できる)	1
軽度浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫 (約 1mm の膨隆)	3
高度浮腫 (1mm 以上の膨隆と暴露範囲を超えた広がり)	4
【最高点 4 点】	
【紅斑・痂皮及び浮腫の合計点数の最高点 8 点】	

3. 考察及び今後の展望

本年度の検討により、マイクロニードルデバイスの製造行程における洗浄操作によって残存モノマーを低減させ、安全域に達する洗浄期間が明確になった。洗浄溶液の pH はリザーバー内部のインスリン安定性に影響を与える可能性があり、今後使用するインスリン製剤との組み合わせで最終的な洗浄期間の設定が必要である。

また、培養細胞を用いた細胞毒性試験およびウサギにおける皮膚刺激性試験においていずれも問題ないことが確認できた。現在、マイクロニードルデバイス装着後に針が脱落し、皮内に残留した場合の影響をウサギにおいて検討している。本プロジェクトが目指すマイクロニードルデバイスは皮膚表面接触医療機器としての側面と、体内と体外を連結する医療機器としての側面があり、臨床応用に向けてクリアすべき課題が多数存在するが、安全性の確認は順調に進んでいる。今後さらにインスリンを充填した状態での安全性を担保し、糖尿病モデル動物を用いた持続的な血糖コントロール効果を検討していく予定である。

【参考文献】

1. Matsumoto A, Tanaka M, Matsumoto H, Ochi K, Moro-Oka Y, et al. Synthetic “smart gel” provides glucose-responsive insulin delivery in diabetic mice. *Sci Adv* 3: eaaq0723, 2017.
2. Abt E, Robin LP, McGrath S, Srinivasan J, DiNovi M, et al. Acrylamide levels and dietary exposure from foods in the United State, an update based on 2011-2015 data. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 36: 1475-1490, 2019.
3. Tardiff RG, Gargas ML, Kirman CR, Carson ML, Sweeney L, et al. Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. *Food Chem Toxicol* 48: 658-667, 2010.

力学的特性と多孔性を両立する

ポリエチレン粒子焼結型マイクロニードルの構築

「貼るだけ人工臓腑」プロジェクト
宮崎 拓也

1. はじめに

マイクロニードル (MNs) は、経皮的に薬理活性物質を導入できることから、ドラッグデリバリーシステムとしての応用が期待されている。実際に、MNs を用いて表皮に薬剤が導入されており、化粧品としての有効性が確認されている。しかしながら、医薬品としての応用に向けては真皮に薬剤を導入する必要があり、MNs の力学的強度の向上が課題である。

一方で、力学的特性の優れた MNs の構築に向けてマイクロ粒子の焼結による多孔質 MNs の開発が進められている。これまでに、無機材料や有機材料からなるマイクロ粒子を焼結させることで MNs の力学的強度を高め、その間に薬剤を内包することで経皮的な薬剤送達を可能にしている。しかしながら、既存のマイクロ粒子は融点が高く均一な熱処理が困難であり、針の成形性や強度が低いことが課題である。そこで、本研究では、融点の比較的低いポリエチレン (PE) マイクロ粒子を焼結させることで多孔質 MNs (PE-MNs) を構築した (図 1)。融点が低く均一な熱処理ができることから成形性や強度の向上が期待される一方で、過度な焼結により多孔性が低下することが予想されるため、焼結における加熱時間を最適化し、構築した MNs の力学的強度や多孔性を評価した。

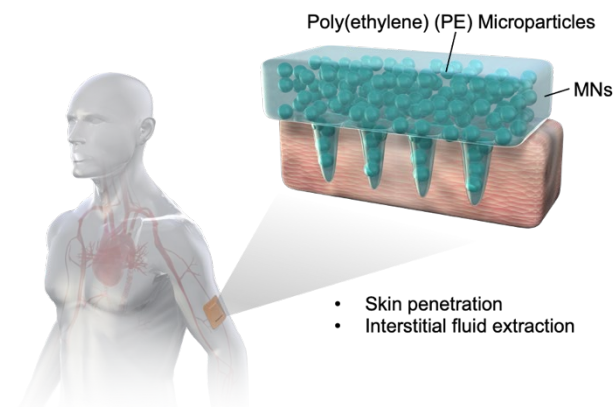


図 1. 本研究の概要

2. 実験と結果

(1) PE-MNs の調製および顕微鏡観察

PE-MNs の調製はポリジメチルシロキサン (PDMS) 鋳型を用いて行なった (図 2 A)。具体的には、25 μm の PE

マイクロ粒子を PDMS 鋳型に添加し、オーブンで加熱することで焼結した。焼結後に冷却を行い、焼結体を鋳型から取り出すことで PE-MNs が得られた。得られた PE-MNs の針の成形性を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて観察したところ、針の先端が尖った針が得られたことが確認された (図 2 B, C)。よって、加熱により PE マイクロ粒子が融解し、冷却後に鋳型の形状に沿って凝固することで針の成形性が高まったことが示唆された。

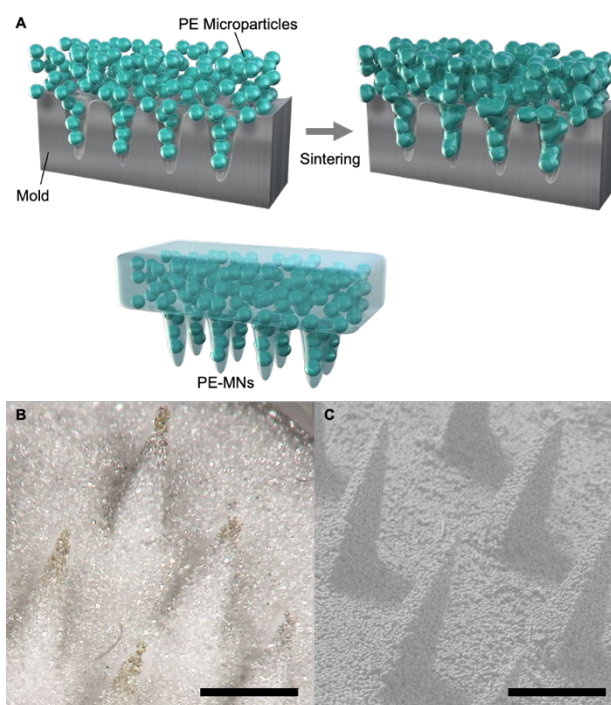


図 2. (A) PE-MNs 調製法. (B) 光学顕微鏡像. (C) SEM 像.

(2) PE-MNs の調製法の最適化および力学的特性の評価

表皮への薬剤導入においては針の短い MNs が用いられ、力学的強度が比較的高い一方で、真皮への薬剤送達に向けては針の長い MNs を用いる必要があり、力学的強度の増大が課題である。そこで、PE-MNs を種々の加熱時間で調製し、ボンドテスターを用いて最大応力を測定し力学的強度の指標とした (図 3 A)。その結果、加熱時間の増加に伴う最大応力の増大が確認され、焼結の進展に伴う

力学的強度の増大が示唆された (図 3 B)。また、皮内をトリパンブルーで染色したマウス皮膚に PE-MNs を貼付したところ (図 3 C)、加熱時間が 15 分の PE-MNs (PE-MNs₁₅) では皮内のトリパンブルーが確認されなかった一方で、加熱時間が 30 分 (PE-MNs₃₀) および 180 分 (PE-MNs₁₈₀) の MNs では皮内のトリパンブルーが確認されたことから、力学的強度の増加に伴う皮膚刺入性の増大が示唆された (図 3 D)。よって、加熱時間を 30 分以上にすることにより PE-MNs の力学的特性を向上できることが示唆された。

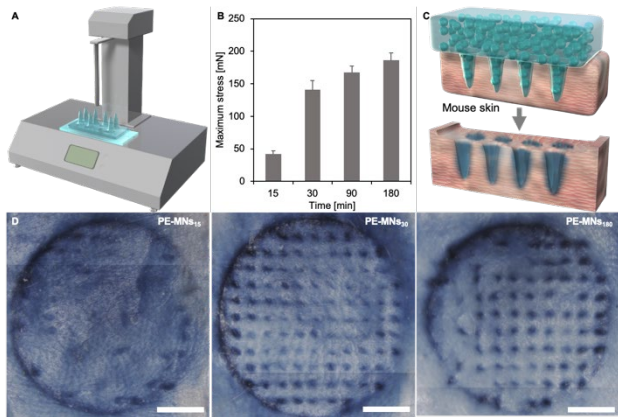


図 3 . (A) 力学的強度の測定法. (B) 加熱時間の異なる PE-MNs の最大応力. (C) 皮膚刺入性の評価法. (D) 種々の加熱時間で作製した PE-MNs の皮膚刺入性.

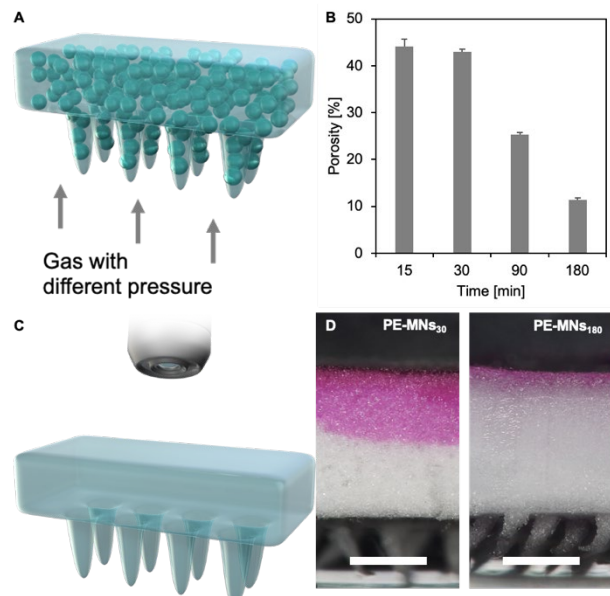


図 4 . (A) 水銀圧入法の概念図. (B) 加熱時間の異なる PE-MNs の気孔率. (C) 溶液浸透性の評価法. (D) 種々の加熱時間で作製した PE-MNs のローダミン水溶液浸透性.

(3) PE-MNs の調製法の最適化および多孔性の評価

力学的特性の評価により加熱時間が最適化できた一方で、過度の焼結による多孔性の低下が予想される。そこで、PE-MNs を種々の加熱時間で調製し、水銀圧入法により気孔率を測定した (図 4 A)。その結果、加熱時間の増加に

伴う気孔率の減少が確認され、特に、加熱時間が 90 分以上の PE-MNs では気孔率が大きく減少した (図 4 B)。また、ローダミン水溶液を PE-MNs に滴下し顕微鏡観察を行なったところ (図 4 C)、PE-MNs₃₀ ではローダミン水溶液の浸透が確認された一方で、PE-MNs₁₈₀ では溶液が表面に局在していることが確認され、気孔率の減少に伴う溶液浸透性の低下が示唆された (図 4 D)。よって、加熱時間を 30 分以下にすることにより PE-MNs の多孔性を維持できることが示唆された。

(4) PE-MNs の調製法の最適化および均一性の評価

力学的特性と多孔性を指標に PE-MNs の加熱時間を最適化したところ、加熱時間を 30 分とすることで力学的特性と多孔性を両立できる PE-MNs が作製できることが確認された。しかしながら、30 分以上の加熱により気孔率が大きく減少した一方で、力学的強度は一定であり、MNs の構造と物性の関係の解明が重要である。そこで、種々の加熱時間で作製した PE-MNs の微小構造を SEM 法により観察した。その結果、加熱時間の増加により粒子間の隙間が不均一になっていることが確認された (図 5 A)。また、水銀圧入法により空孔分布を測定したところ、加熱時間の増加により空孔分布が広がっていることが確認された (図 5 B)。PE-MNs₃₀ では孔径が揃っており印加した応力が均一に伝播する一方で、PE-MNs₁₈₀ では孔径が不均一であり孔径の大きな領域において応力集中が発生するため、加熱時間を増加しても力学的特性が改善しなかったと考えられる。よって、均一性の高い多孔質 MNs を作製することで、力学的特性と多孔性の両立した MNs を構築できることが示唆された。

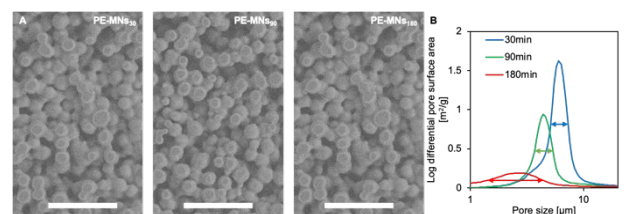


図 5 . (A) 加熱時間の異なる PE-MNs 微小構造の SEM 像. (B) 種々の加熱時間で作製した PE-MNs の空孔分布.

3. 考察及び今後の展望

本研究では、融点の比較的低い PE マイクロ粒子を焼結させることで多孔質 MNs を作製し、既存の MNs の課題であった力学的特性と多孔性の両立を目指した。MNs 作製における最も重要な要素である加熱時間に着目し、力学的強度と気孔率を指標に最適化を行った。強度および気孔率は経時的に増大および減少し、30 分の加熱時間が最適であることが確認された。ここで、MNs の構造解析により孔径の均一性が重要であることが示唆された。よって、これらの結果は、MNs の構造と物性の関係性を明らかにし、生体応用に向けた MNs の開発をさらに促進させるものである。

業績

【原著論文】 (投稿掲載)

1. Tachihara Yoshihiro, Yasuhiro Nakagawa, Takuya Miyazaki, Yasutaka Anraku, Horacio Cabral, *Nano Select*, 3(8), 1242-1251(2022)
2. Rumi Hachiya, Miyako Tanaka, Michiko Itoh & Takayoshi Suganami, *Inflammation and Regeneration*, 42(13), 198 (2022)
3. Pengwen Chen, Wenqian Yang, Taehun Hong, Takuya Miyazaki, Anjaneyulu Dirisala, Kazunori Kataoka, Horacio Cabral, *Biomaterials*, 288, 121748(2022)
4. Takuya Miyazaki (Shaoyi Chen, Stelios Florinas, Kazunori Igarashi, Yu Matsumoto, Tatsuya Yamasoba, Ze-Qi Xu, Herren Wu, Changshou Gao, Kazunori Kataoka, R. James Christie, Horacio Cabral, *ACS Nano*, 16(8), 12290-12304(2022)
5. Hideki Fujisaki (Akira Matsumoto, Yuji Miyahara, Tatsuro Goda), *Science and Technology of Advanced Materials*, 4(1), 525-534(2022)
6. Chizumi Abe (Ohki Higuchi, Akira Matsumoto, Taiki Miyazawa), *Analyst*, 2022, 147(12), 2640-2643
7. Wenqian Yang, Takuya Miyazaki, Yasuhiro Nakagawa, Eger Boonstra, Keita Masuda, Yuki Nakashima, Pengwen Chen, Lucas Mixich, Kevin Barthelmes, Akira Matsumoto, Peng Mi, Satoshi Uchida and Horacio Cabral, *Science and Technology of Advanced Materials*, 24(1), 2170164(2023)
8. Pengwen Chen, Wenqian Yang, Koji Nagaoka, George Lo Huang, Takuya Miyazaki, Taehun Hong, Shangwei Li, Kazunori Igarashi, Kazuyoshi Takeda, Kazuhiro Kakimi, Kazunori Kataoka, and Horacio Cabral, *Advanced Science*, Early view, 2205139(2023)
9. 13th International Gel Symposium, 2022年9月3日, 北海道
3. Akira Matsumoto
"Borono-lectin" platform for smart drug delivery systems
SBPMat Brazil-MRS, 2022年9月28日, Foz do Iguaçu
4. Michiko Itoh, Takayoshi Suganami
Altered cholesterol metabolism in macrophages triggers profibrotic phenotypic changes in metabolic syndrome. 第26回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 2022年10月12日, 京都
5. 宮崎拓也
薬剤放出プロファイルを自由自在に操るマイクロニードルによるワクチン効果の検証
第29回次世代医工学研究会, 2022年10月25日, オンライン
6. Barthelmes Kevin, 榊沼慶一郎, 松元亮
Tuning the Stability of Dioxazaborocanes - A versatile group for biomedical applications
第29回次世代医工学研究会, 2022年10月25日, オンライン
7. 伊藤美智子, 田村篤志, 金井紗綾香, 白川伊吹, 田中都, 金森耀平, 小川佳宏, 菅波孝祥
マクロファージにおける脂質代謝障害に着目した NASH 発症機構の解明
第95回日本生化学会大会, 2022年11月10日, 名古屋
8. Barthelmes Kevin, 榊沼慶一郎, 大塚英典, 松元亮
pH-responsive Hydrogel formed by mixing Polymers with dynamic
NIMS WEEK 2022, 2022年11月14日, 東京
covalent Crosslinks based on Dioxazaborocanes
9. 伊藤美智子, 金井紗綾香, 白川伊吹, 田中都, 小川佳宏, 菅波孝祥
NASH におけるマクロファージのリソソーム機能障害と病態生理的意義の解明, 第43回日本肥満学会学術集会, 沖縄, 2022年12月3日
10. 松元亮, "ボロノレクチン"を駆使した生体対話型バイオエンジニアリング, NIMS WEEK 2022, 東京, 2022年11月14日.
11. Michiko Itoh, Takayoshi Suganami
Altered lipid metabolism in macrophages as a novel molecular mechanism of non-alcoholic steatohepatitis, 第100回日本整理学会大会, 京都, 2023年3月15日
12. Michiko Itoh, Miyako Tanaka, Takayoshi Suganami
Lysosomal cholesterol overload triggers macrophage phenotypic changes and promotes liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis, Keystone symposium-Metabolic and Molecular Mechanisms of NAFLD/NASH. Canada, 2023年3月21日

【総説】

1. Taiki Miyazawa (Chizumi Abe, Gregor Carpentero Burdeos, Akira Matsumoto, Masako Toda), "Food Antioxidants and Aging: Theory, Current Evidence and Perspectives", *Nutraceuticals*, 2022, 2(3), 181-204.

【口頭発表】

1. 松元亮, "ボロン酸ゲルを応用した「貼るだけ人工臓」開発の最前線, Medtech Japan, ~生体医歯工学共同研究拠点の最先端医療技術の紹介~, オンライン, 2022年6月10日.
2. Kevin Barthelmes, (Keiichiro Yaginuma, Hidenori Otsuka, and Akira Matsumoto)
pH-responsive Hydrogel formed by mixing Polymers with dynamic covalent Crosslinks based on Dioxazaborocanes,

【特許】

- (1)国内特許出願 3 件
- (2)国際特許出願 1 件