

ハイブリッドリポソームを用いたアルツハイマー病治療に関する基礎研究

座古恵子, 坂口磨姫, 古水雄志, 市原英明,
後藤浩一, 松本陽子, 上岡龍一*Experimental Therapeutic Effects of Hybrid Liposomes
on the Alzheimer's Disease *in Vitro*Keiko ZAKO, Maki SAKAGUCHI, Yuji KOMIZU, Hideaki ICHIHARA,
Koichi GOTO, Yoko MATSUMOTO, and Ryuichi UEOKA*Division of Applied Life Science, Graduate School of Engineering, Sojo University,
4-22-1 Ikeda, Kumamoto 860-0082, Japan

(Received January 10, 2011; Accepted February 21, 2011; Published online February 24, 2011)

Accumulation of β amyloid ($A\beta$) peptides to nerve cells should be associated with the onset of Alzheimer's disease (AD). We prepared hybrid liposomes (HL) composed of 90 mol% phospholipids having various charged head groups (cationic L- α -dimyristoyltrimethyl ammonium propane (DMTAP), anionic L- α -dimyristoylphosphatidylserine (DMPS) or zwitterionic L- α -dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC)) and 10 mol% polyoxyethylene(23) dodecyl ether ($C_{12}(EO)_{23}$), and investigated the inhibitory effects of HL on the accumulation of $A\beta_{1-40}$ peptides into human neuroblastoma (SH-SY5Y) cells *in vitro*. It is noteworthy that remarkable inhibitory effects on the accumulation of $A\beta_{1-40}$ peptides were observed for SH-SY5Y cells treated with anionic HL-DMPS, though the accumulation was not inhibited by cationic HL-DMTAP. On the other hand, the immediate fusion of HL-DMTAP into SH-SY5Y cells was confirmed using a confocal laser microscope. Interestingly, the specific interactions between anionic HL-DMPS and $A\beta_{1-40}$ peptides were observed using the thioflavin T (ThT) assay. In addition, the cytotoxicity of $A\beta_{1-42}$ peptides on the SH-SY5Y cells decreased after the treatment with HL-DMPS. These results suggest that anionic HL-DMPS could be used as a novel medicine for AD in the future.

Key words—Alzheimer's disease; amyloid β ; hybrid liposome

緒 言

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) は、痴呆を主な症状とし、脳の萎縮・アミロイドの沈着による老人斑・神経細胞死がみられる世界的に最も多い進行性の神経変性疾患である。現在、国内における患者数は200万人を超えており、社会の高齢化に伴って、その数は増加していくと予想されている。ADには、常染色体優勢遺伝の家族性AD (Familial AD: FAD) と環境的要因を背景に持った弧発性ADに大別される。両方の発症率を比較すると、FADは全体の数%に過ぎず、大多数が弧発性ADである。しかしながら、弧発性ADの根本的な原因はいまだ明らかにされていない。

AD発症の原因として広く研究されているのは、

ペプチドの一種である β アミロイド ($A\beta$) の蓄積に注目したアミロイドカスケード仮説に関する研究である。¹⁾ $A\beta$ は、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) が、セクレターゼによって切断されて産生される、38から43のアミノ酸からなるペプチドである。また、APPより産生された $A\beta$ の異常凝集によるアミロイド塊が、神経毒性を持つことが知られている。²⁾ 凝集体を形成する $A\beta$ の中でも、40のアミノ酸からなる $A\beta_{1-40}$ 、42のアミノ酸からなる $A\beta_{1-42}$ が細胞毒性に深く係わると言われている。これら $A\beta$ の凝集について、神経細胞膜上のガングリオシド (GM1) と結合することで凝集が始まり、線維形成につながる“seed仮説”³⁾が唱えられており、 $A\beta$ の挙動が注目されている。また、細胞内微小管の安定化に係わるTauタンパク質の過剰なりん酸化もみられ、これによって神経原線維変化や老人斑が生じ、神経毒性を示すことも知られている。

現在、AD 治療薬として、国内ではアリセプト (ドネペジル塩酸塩)⁴⁾が唯一保険適応を持った薬剤として用いられている。効能としては、認知症状の進行を遅らせる働きがある。しかし、AD の初期段階でのみ作用し、適応範囲が狭い。また、吐き気や動悸、横紋筋融解症などの副作用も報告されているため、より安全で治療効果の高い薬剤の開発が急務である。

上岡らが創製したハイブリッドリポソーム (HL)^{5,6)}は、有機溶媒を用いることなく、緩衝溶液中でリン脂質のようなベシクル分子とミセル分子を超音波照射するだけで調製できるナノ粒子であり、「素材や組成比、イオン強度の選択によって膜直径や相転移温度、流動性といった物性を制御できる」特徴がある。^{5,6)} 現在までの HL 研究において、HL にペプチド触媒を含有させた膜酵素モデル研究では、L 体アミノ酸エステルのみでの立体選択的加水分解に成功している。⁷⁾ また、がん治療に関する研究では、*in vitro* において、薬物を含有させずに種々のがん細胞に対する顕著な増殖抑制効果を示している^{8,9)}。さらに、HL はがん細胞膜特異的に蓄積し、¹⁰⁾ カスペースカスケードを経てアポトーシスを誘導することが明らかになっている。^{11,12)} 薬物運搬体に関しては、脳腫瘍治療薬である脂溶性ニトロソウレア (BCNU)¹³⁾を HL に含有させ、*in vivo* において、脳腫瘍モデルラットの延命効果を報告している。*in vivo* においては、種々の担がんモデルマウスを用いた治療実験から延命効果が得られている。¹⁴⁻¹⁶⁾ さらに、生命倫理委員会の承認後、悪性リンパ腫の患者に対する臨床試験において、高い安全性及び固形リンパ腫瘍の顕著な縮小効果が得られている。¹⁶⁾ 一方、最近、*in vitro* におけるヒト末梢血単核細胞に対する免疫賦活効果も報告されており、¹⁷⁾ 生体適合性の優れた医用素材として期待されている。

本研究は、AD モデル細胞として用いられているヒト神経芽腫 (SH-SY5Y) 細胞を使用し、親水基の電荷の異なる脂質を素材とする HL を用いて、 $A\beta_{1-40}$ 蓄積抑制効果並びにメカニズムについて検討した。

実験方法

1. 試料 双性リン脂質の L- α -ジミリスチル

ホスファチジルコリン (DMPC)、アニオン性の L- α -ジミリスチルホスファチジルセリン (DMPS) は、市販品 (日本油脂) をそのまま使用した。同様に、カチオン性の 1,2-ジミリスチル-3-トリメチルアンモニウムプロパン (DMTAP) も、市販品 (Avanti Polar Lipids) を使用した。PEG 系界面活性剤であるポリオキシエチレン (23) ドデシルエーテル (C₁₂(EO)₂₃) は、市販品 (Sigma) を Elworthy らの方法¹⁸⁾に従い、エーテル再結晶したものをを用いた。Figure 1 に素材に用いたリン脂質の構造式を示す。蛍光脂質である 1-パルミトイル-2-[12-(7-ニトロ-2-1,3-ベンゾキシアジアゾール-4-イル)アミノ]ドデカノイル]-*sn*-グリセロ-3-ホスフォコリン (NBDPC) は、市販品 (Avanti Polar Lipids) をそのまま使用した。

2. 細胞 ヒト神経芽腫 (SH-SY5Y, ATCC) 細胞を実験に用い、RPMI1640 (Gibco) にペニシリン G 及び硫酸ストレプトマイシン (明治製菓)、20% ウシ胎児血清 (HyClone) を含有させたものを培地として、37°C、5% CO₂ 下で培養した。

3. ハイブリッドリポソームの調製 HL は、90 mol% リン脂質 (DMPC, DMPS, DMTAP) と 10 mol% PEG 系界面活性剤 (C₁₂(EO)₂₃) をリン酸緩衝溶液 (PBS(-)) に溶解させ、45°C、窒素雰囲気下で超音波照射して調製した。孔径 0.20 μ m メンブレンフィルターでろ過滅菌したものを実験に使用した。

4. ハイブリッドリポソームの膜直径の測定 HL の膜直径 (d_{hy}) は、光散乱光度計 (ELSZ-0, Otsuka Electronics) を用い、動的散乱法により 25°C の条件で測定した。光源として、He-Ne レーザーの 633 nm の発振線を出力 10 mW で用い、散乱角 90°で測定し、得られた拡散係数 (D) から Stokes-Einstein 式 Eq. (1) に従って、 d_{hy} を求めた。

$$d_{hy} = \kappa T / 3 \pi \eta D \quad (1)$$

ここで、 κ は Boltzmann 定数、 T は絶対温度、 η は溶媒粘度である。

5. 細胞増殖抑制効果の評価 SH-SY5Y 細胞に対する 10% 増殖抑制濃度 (IC₁₀) は、酵素活性測定法である WST-8 assay (Cell Counting Kit, Dojindo Laboratories) により評価した。¹⁹⁾ 96 穴マルチプレート (SUMILON) に、初期細胞数 2.0×10^5 cells/ml の細胞懸濁液を 100 μ l 播種し、37°C、5%

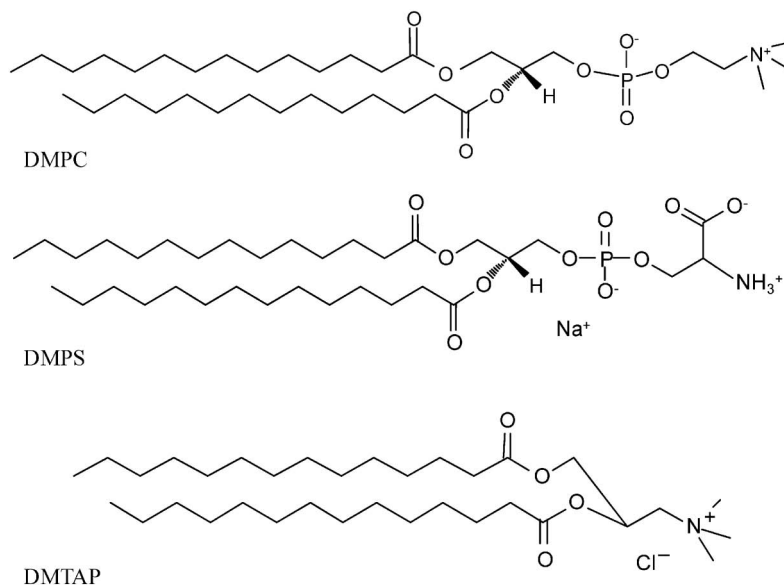


Fig. 1. Molecular Structure of Various Charged Lipids

CO₂ 下で 24 時間培養した。試料溶液を 10 μ l/well 添加し、48 時間培養した。WST-8 溶液を 10 μ l/well 添加した。2 時間後に、分光光度計 (VERSA max microplate reader, Molecular Devices) を用いて、波長 450 nm における吸光度を測定した。ここで、本実験では、HL を添加したものを陽性対象検体、細胞懸濁液のみのもを陰性対象検体とした。陽性対象検体の吸光度からブランクの吸光度を引いたものを A_{Mean} 、陰性対象検体の吸光度からブランクの吸光度を引いたものを A_{Control} とし、細胞生存率を計算した。細胞生存率は、 $(A_{\text{Mean}}/A_{\text{Control}} \times 100 \%)$ により算出し、生存率の試料濃度依存性から IC₁₀ を求めた。

6. 蛍光染色法による A β の SH-SY5Y 細胞に対する蓄積観察 HL 処理した細胞への A β_{1-40} の蓄積を、共焦点レーザー顕微鏡 (TCS-SP, Leica) を用いて観察した。ガラスボトムディッシュ (Mat Tek) に、初期細胞数 2×10^5 cells/ml で細胞を播種し、37°C, 5% CO₂ 下で 24 時間培養した。細胞に、HL 試料溶液及び A β を染色する Thioflavin T (ThT, Wako) を添加して 10 分間インキュベート後、A β_{1-40} (Peptide Institute) を添加し、90 分間観察を行った。光源には、波長 488 nm の Ar レーザーを用い、励起波長 455 nm、検出波長 465–520 nm の条件で観察した。

7. 細胞へのハイブリッドリポソームの取り込み量の測定 蛍光標識リン脂質の NBDPC を用い、

NBDPC を含有させた HL/NBDPC の SH-SY5Y 細胞への取り込み量を、フローサイトメーター (Epics XL system II, Beckman Coulter) を用いて測定した。初期細胞数 2×10^5 cells/ml の SH-SY5Y 細胞を、6 穴プレート (SUMILON) に播種し、37°C, 5% CO₂ 下で 24 時間培養した。HL/NBDPC 試料溶液を添加後、処理時間毎に培養液を除去した後、細胞を剥離し、遠心分離にて細胞を回収した。ナイロンメッシュを通過させた後に、FACS チューブに細胞懸濁液を分注し、フローサイトメーターを用いて測定した。光源には、波長 488 nm の Ar レーザーを出力 15 mW で使用し、FL-1 センサーによる NBDPC の蛍光強度の検出を行った。本実験で使用した NBDPC の構造式を Fig. 2 に示す。

8. ThT assay を用いたハイブリッドリポソーム処理による A β 凝集の測定 A β 凝集体形成に対する HL の影響を検証するために、A β 指向性色素である Thioflavin T (ThT) を用いて分光学的に評価した。HL 試料溶液と A β_{1-40} を混合し、37°C で 2 時間インキュベートした後、1 cm 角の石英セルに分注した。ThT (Nacalai tesque) を添加し、分光蛍光光度計 (F-2000, HITACHI) を用いて、励起波長 445 nm、蛍光波長 481 nm²⁰⁾ で蛍光強度を測定した。

9. HL 処理による A β_{1-42} の細胞毒性の測定 HL 処理が A β の細胞毒性に与える影響について、A β_{1-40} よりも毒性の高い A β_{1-42} を用いて、²¹⁾ トリパ

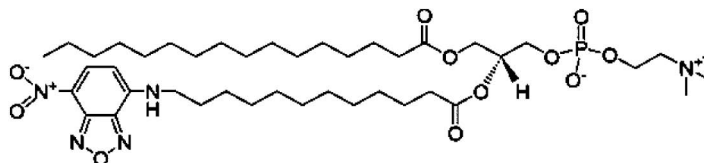


Fig. 2. Molecular Structure of NBDPC

ンブルー色素排除法によって検討した。96穴マルチプレートに、初期細胞数 2.0×10^5 cells/ml の SH-SY5Y 細胞を $100 \mu\text{l}$ 播種し、 37°C , $5\% \text{CO}_2$ 下で 24 時間培養した。HL 試料溶液を添加し、10 時間インキュベート後、 $\text{A}\beta_{1-42}$ を添加して 48 時間培養した。ウェル内の細胞を回収し、トリパンブルー色素排除法により細胞数を計測した。

結果と考察

1. ハイブリッドリポソームの物性 親水基の電荷の異なる脂質を構成成分とする HL の膜直径 (d_{hy}) の経時変化を、Fig. 3 に示す。双性の HL-DMPC 及びアニオン性の HL-DMPS は、 100 nm 付近で長期間安定したのに対し、カチオン性の HL-DMTAP は調製直後から不安定であり、短期間で沈殿を生じた。HL-DMPC 及び HL-DMPS は、生体内に投与した際に、細網内皮系²²⁾を回避でき、臨床応用に適していると考えられる。

2. SH-SY5Y 細胞に対するハイブリッドリポソームの増殖抑制効果 種々の HL のヒト神経芽腫 (SH-SY5Y) 細胞に対する増殖抑制効果 (IC_{10} 値) を、Table 1 にまとめた。なお、 IC_{10} 値は、リン脂質濃度を基準とした。双性の HL-DMPC の IC_{10} 値は、 $91 \mu\text{M}$ 、アニオン性の HL-DMPS では、 $149 \mu\text{M}$ 、カチオン性の HL-DMTAP の場合は、 $54 \mu\text{M}$ であった。この結果から、 IC_{10} は $\text{HL-DMPS} > \text{HL-DMPC} > \text{HL-DMTAP}$ の順となり、カチオン性 HL-DMTAP は低濃度で細胞増殖を抑制することが明らかになった。以降は、すべての HL の IC_{10} 値以下である $[\text{lipids}] = 50 \mu\text{M}$ の濃度条件で、実験を行った。

3. 蛍光染色法による $\text{A}\beta_{1-40}$ の SH-SY5Y 細胞への蓄積観察 HL 処理による SH-SY5Y 細胞への $\text{A}\beta_{1-40}$ の蓄積抑制効果については、 $\text{A}\beta$ を染色する蛍光色素の Thioflavin T (ThT) を用いて、共焦点レーザー顕微鏡観察により行った。結果を Fig. 4

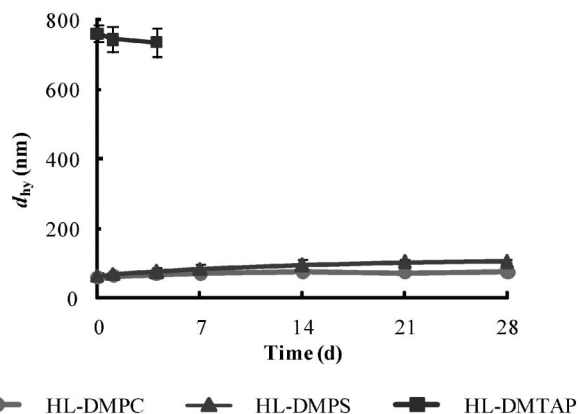


Fig. 3. Time Courses of d_{hy} for HL at 25°C [$\text{lipids}] = 1 \text{ mM}$, $[\text{C}_{12}(\text{EO})_{23}] = 111 \mu\text{M}$. Data represent the mean \pm S.E. ($n=3$).

Table 1. Inhibitory Effects of HL on the Growth of SH-SY5Y Cells for 48 h

Samples	IC_{10} (μM)	\pm S.E.
HL-DMPC	91	4
HL-DMPS	149	20
HL-DMTAP	54	11

Data represent the mean \pm S.E. ($n=3$).

に示す。

双性の HL-DMPC で処理した細胞では、経時的に ThT の蛍光が増し、 $\text{A}\beta_{1-40}$ の蓄積が確認された。アニオン性の HL-DMPS で処理した細胞では、観察を行った 90 時間を通して、 $\text{A}\beta_{1-40}$ の蓄積が顕著に抑えられた。また、カチオン性の HL-DMTAP 処理した細胞では、時間経過とともに $\text{A}\beta_{1-40}$ が蓄積する様子が観察され、 $\text{A}\beta_{1-40}$ の蓄積を抑えることはできなかった。

以上の結果より、 $\text{A}\beta_{1-40}$ が HL の持つ電荷との相互作用で、細胞への蓄積に差異を生じることが今回初めて明らかになった。特に、アニオン性 HL-DMPS が $\text{A}\beta_{1-40}$ の蓄積を抑制することが確認された。

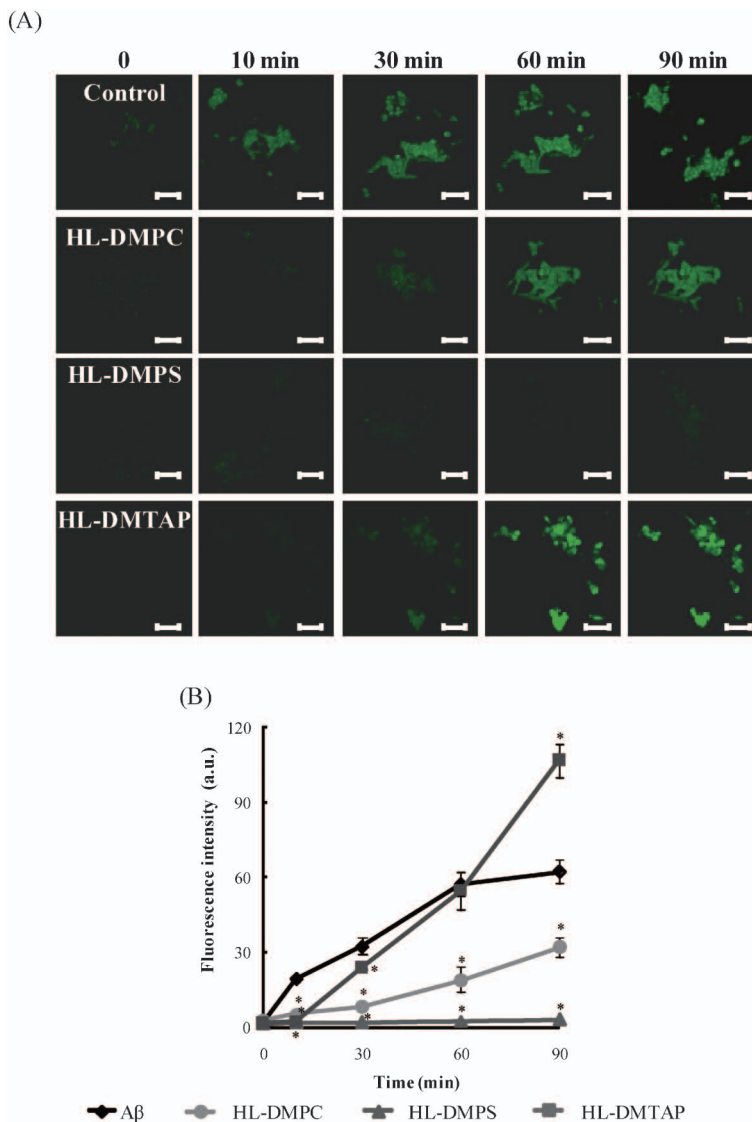
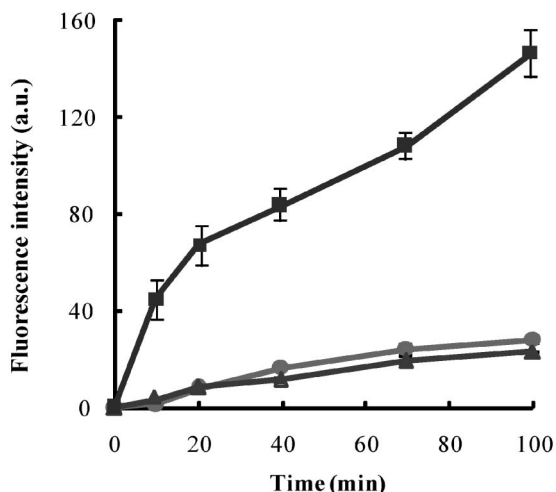


Fig. 4. HL-DMPS Inhibit Accumulation of $A\beta_{1-40}$ into SH-SY5Y Cells

(A) Fluorescence micrograph images, (B) Fluorescence intensity of SH-SY5Y cells stained with ThT after the treatment with HL. [lipids] = 50 μ M, [C₁₂(EO)₂₃] = 5.5 μ M, [$A\beta_{1-40}$] = 20 μ M, [ThT] = 20 μ M. Scale bars: 20 μ m. Data represent the mean \pm S.E. ($n=4$). *Significant difference ($p < 0.05$) compared with the $A\beta_{1-40}$.

4. SH-SY5Y 細胞へのハイブリッドリポソームの蓄積 3 種類の HL 処理による SH-SY5Y 細胞への $A\beta_{1-40}$ の蓄積メカニズムについては、蛍光リン脂質 (NBDPC) を HL 内に含ませた NBDPC 含有 HL を用い、フローサイトメーターを用いて取り込み量を検討した。結果を Fig. 5 に示す。双性の HL-DMPC, アニオン性の HL-DMPS 処理した細胞では、細胞に取り込まれた NBDPC による蛍光強度が低く抑えられていたが、カチオン性の HL-DMTAP 処理では、添加直後から NBDPC による蛍光強度が高まり、細胞に取り込まれ易いことが明らかになった。

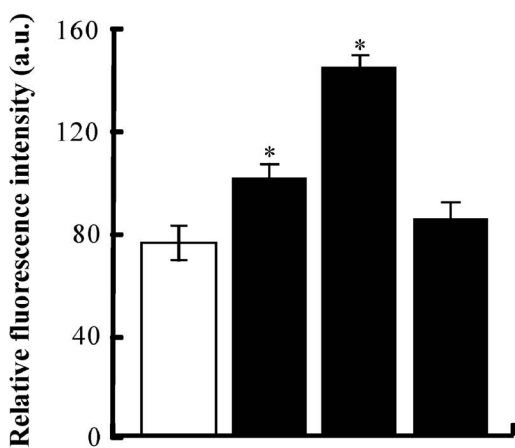
5. ハイブリッドリポソームの凝集体形成への影響 電荷の異なる HL と $A\beta_{1-40}$ の静電的な相互作用について、HL 溶液中での $A\beta_{1-40}$ 凝集体形成を ThT の蛍光検出によって検証した。結果を Fig. 6 に示す。本実験では、コントロールに $A\beta_{1-40}$ の PBS(-) 溶液を用いた。コントロールと比較して、双性の HL-DMPC 溶液中では ThT の蛍光が増しており、 $A\beta_{1-40}$ 凝集体が形成されていることが示された ($p < 0.05$)。さらに、アニオン性の HL-DMPS 溶液では、ThT の蛍光強度の増加が著しく、より多くの $A\beta_{1-40}$ 凝集体が形成されていると考えられる ($p < 0.05$)。一方、カチオン性の HL-DMTAP



● HL-DMPC ▲ HL-DMPS ■ HL-DMTAP

Fig. 5. Fluorescence Intensity of HL Including NBDPC in SH-SY5Y Cells

[lipids] = 50 μM , [C₁₂(EO)₂₃] = 5.8 μM , [NBDPC] = 0.46 μM . Data represent the mean \pm S.E. (n=3).

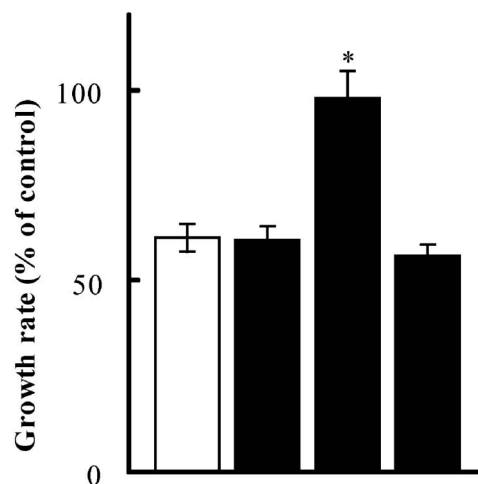


A β_{1-40}	+	+	+	+
HL-DMPC	-	+	-	-
HL-DMPS	-	-	+	-
HL-DMTAP	-	-	-	+

Fig. 6. Effects of HL on A β_{1-40} Aggregation on the Basis of Fluorometric ThT Assay

[lipids] = 50 μM , [C₁₂(EO)₂₃] = 5.5 μM , [A β_{1-40}] = 20 μM , [ThT] = 10 μM . Data represent the mean \pm S.E. (n=3). * Significant difference ($p < 0.05$) compared with the A β_{1-40} .

溶液中では、有意な ThT の蛍光強度の増大がみられず、コントロールと同等であった。先の HL の SH-SY5Y 細胞への取り込み量の解析結果より、アニオン性の HL-DMPS は、細胞に取り込まれ難い



A β_{1-42}	+	+	+	+
HL-DMPC	-	+	-	-
HL-DMPS	-	-	+	-
HL-DMTAP	-	-	-	+

Fig. 7. Effects of HL on A β_{1-42} Cytotoxicity

[lipids] = 25 μM , [C₁₂(EO)₂₃] = 2.3 μM , [A β_{1-42}] = 10 μM . Data represent the mean \pm S.E. (n=3). * Significant difference ($p < 0.05$) compared with the A β_{1-42} .

ことから (Fig. 5), HL-DMPS が A β_{1-40} を捕捉し、細胞への蓄積を防ぐ可能性が示唆される。既に、石英スライドガラスを用いたモデル膜実験²³⁾において、負の電荷を持ったガラス表面では、A β_{1-40} の凝集体形成が起こることが報告されており、本実験の結果と類似している。また、HL-DMPS は、SH-SY5Y 細胞に融合し難いことから、HL-DMPS 溶液中で形成された A β_{1-40} の凝集体を捕捉するようにして、細胞に蓄積するのを防いでいることが考えられる。

AD において、実際に患者の血清中の A β_{1-40} 濃度が高まる²⁴⁾ことから、アニオン性ハイブリッドリポソーム (HL-DMPS) が血液中の A β_{1-40} を除去し、細胞への蓄積を防ぐ治療薬としての可能性が期待できる。

6. A β の細胞毒性に対する HL の影響 AD において、A β の異常な凝集は細胞毒性を持つことが知られている。²⁾ 本実験では、HL 処理が A β の持つ細胞毒性に与える影響について、トリパンブルー色素排除法によって細胞数を計測し、検討した。なお、実験には、A β_{1-40} よりも毒性の高い A β_{1-42} ²¹⁾ を用いた。結果を Fig. 7 に示す。細胞に A β_{1-42} を添

加することで、細胞増殖が抑制されることが示された。双性の HL-DMPC 及びカチオン性の HL-DMTAP 処理によっては $A\beta_{1-42}$ による細胞増殖抑制作用を回復する効果はみられなかった ($p < 0.05$)。一方、アニオン性の HL-DMPS 処理によって、細胞の増殖は、コントロールと同等にまで回復した。以上の結果より、アニオン性の HL-DMPS は、 $A\beta$ の細胞への蓄積を抑えることで、細胞毒性を抑える可能性が明らかになった。実際の AD において、血漿 $A\beta$ の増加は AD 発症のリスクが高まる²⁵⁾ことから、血液中の $A\beta$ を除去することで、AD 発症を防ぐという新たな医療素材として期待できる。

結 言

本研究は、AD モデル細胞として用いられているヒト神経芽腫 (SH-SY5Y) 細胞を使用し、親水基の電荷の異なる脂質からなる HL を用いて、 $A\beta_{1-40}$ 蓄積抑制効果並びにメカニズムについて検討した。その結果、以下の知見が得られた。

- (1) 双性の HL-DMPC, アニオン性の HL-DMPS は、直径 100 nm 付近の安定した膜を長期間維持した。
- (2) アニオン性の HL-DMPS 処理した SH-SY5Y 細胞において、 $A\beta_{1-40}$ の蓄積を抑制することが確認され、 $A\beta_{1-40}$ が HL の持つ電荷との相互作用で、細胞への蓄積に差異を生じることが今回初めて明らかになった。
- (3) HL の SH-SY5Y 細胞への取り込み量を測定したところ、カチオン性の HL-DMTAP は細胞内に取り込まれ易いことが明らかになった。
- (4) HL 溶液中での $A\beta_{1-40}$ 凝集体形成について、アニオン性の HL-DMPS 溶液では、ThT の蛍光強度が高まり、 $A\beta_{1-40}$ との凝集体を形成することが示された。一方、双性の HL-DMPC 及びカチオン性の HL-DMTAP では、 $A\beta_{1-40}$ 溶液とほぼ同等の蛍光強度を示した。
- (5) $A\beta_{1-40}$ よりも毒性の強い $A\beta_{1-42}$ の細胞毒性に対する HL 処理の影響については、アニオン性の HL-DMPS が、SH-SY5Y 細胞の増殖を回復させることが明らかになった。

以上の結果より、HL の素材に用いた脂質の電荷の違いが $A\beta_{1-40}$ の細胞への蓄積に影響を及ぼすこ

とが、今回初めて明らかになった。中でも、アニオン性の HL-DMPS 処理によって、細胞への $A\beta_{1-40}$ の蓄積が顕著に抑えられ、AD 治療薬としての可能性が示された。また、HL-DMPS は、SH-SY5Y 細胞に融合し難いことから、HL-DMPS 溶液中で形成された $A\beta_{1-40}$ の凝集体を捕捉するようにして、細胞に蓄積するのを防いでいることが考えられる。さらに、HL-DMPS は $A\beta_{1-42}$ の毒性から細胞を保護するはたらきがあることも明らかになった。実際の AD において、血漿 $A\beta$ の増加は AD 発症のリスクが高まることが報告されている。²⁵⁾ アミロイドカスケード仮説に基づく AD 発症のメカニズムに鑑み、血液中の $A\beta$ を除去することで、AD 発症を防ぐという新たな医療素材への展開が期待できる。今後、アルツハイマーモデル動物を用い、HL-DMPS による治療効果及び体内動態を明確にする。

REFERENCES

- 1) Hardy J., Selkoe D. J., *Science*, **297**, 353-356 (2002).
- 2) Edagawa Y., *Journal of Human Environmental Engineering*, **5**, 138-147 (2003).
- 3) Yanagisawa K., Okada A., Suzuki N., *Nat. Med.*, **1**, 1062-1066 (1995).
- 4) Sugimoto H., Imamura Y., Yamanishi Y., Yamatsu K., *J. Med. Chem.*, **38**, 4821-4829 (1995).
- 5) Ueoka R., Moss R. A., Matsumoto Y., Straus G., Murakami Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 2185-2186 (1985).
- 6) Ueoka R., Matsumoto Y., Moss R. A., Swarup S., Sugii A., Harada K., Kikuchi J., Murakami Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1588-1595 (1988).
- 7) Ueoka R., Matsumoto Y., Yoshino T., Hirose T., Kikuchi J., Murakami Y., *Chem. Lett.*, **15**, 127-131 (1986).
- 8) Matsumoto Y., Imamura C., Ito T., Taniguchi C., Ueoka R., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1456-1458 (1995).
- 9) Nagami H., Nakano K., Ichihara H., Matsumoto Y., Ueoka R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 782-785 (2006).
- 10) Nakano K., Iwamoto Y., Takata W., Matsumoto Y., Ueoka R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 3251-3254 (2002).

- 11) Matsumoto Y., Iwamoto Y., Matsushita T., Ueoka R., *Int. J. Cancer*, **115**, 377–382 (2005).
- 12) Komizu Y., Matsumoto Y., Ueoka R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 6131–6134 (2006).
- 13) Kitamura I., Kochi M., Matsumoto Y., Ueoka R., Kuratsu J., Ushio Y., *Cancer Res.*, **56**, 3986–3992 (1996).
- 14) Ueoka R., Matsumoto Y., Kanno A., Tsuzaki K., Ichihara H., *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 1262–1263 (2000).
- 15) Ichihara H., Nagami H., Yamamoto K., Matsumoto Y., Ueoka R., *Yakugaku Zasshi*, **123**, 25–34 (2003).
- 16) Ichihara H., Nagami H., Kiyokawa T., Matsumoto Y., Ueoka R., *Anticancer Res.*, **28**, 1187–1196 (2008).
- 17) Komizu Y., Tomonaga Y., Goto K., Ueoka R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 613–616 (2007).
- 18) Elworthy P. H., Macfarlane C. B., *J. Chem. Soc.*, 537–541 (1962).
- 19) Tominaga H., Ishiyama M., Ohseto F., Sasamoto K., Hamamoto T., Suzuki K., Watanabe M., *Anal. Commun.*, **36**, 47–50 (1999).
- 20) Ashwini S. P., Israel R., Hayat O., *Peptides*, **27**, 2858–2866 (2006).
- 21) Wei W., Wang X., Kusiak J. W., *J. Biol. Chem.*, **277**, 17649–17656 (2002).
- 22) Huang S. K., Lee K. D., Hong K., Friend D. S., Papahadjopoulod D., *Cancer Res.*, **52**, 5135–5143 (1992).
- 23) Ban T., Moriguchi K., Yagi H., Kawasaki T., Kobayashi A., Yuba S., *J. Biol. Chem.*, **281**, 33677–33683 (2006).
- 24) Graff-Radford N. R., Crook J. E., Lucas J., Boeve B. F., Knopman D. S., Ivnik R. J., Smith G. E., Younkin L. H., Peterson R. C., Younkin S. G., *Arch. Neurol.*, **64**, 354–362 (2007).
- 25) van Oijen M., Hofman A., Soares H. D., Koudstaal P., Breteler M. M., *Lancet Neurol.*, **5**, 655–660 (2006).