

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-11913

(P2020-11913A)

(43) 公開日 令和2年1月23日(2020.1.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 7 6
A 6 1 K 41/00 (2020.01)	A 6 1 K 41/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/409 (2006.01)	A 6 1 K 31/409	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/5415 (2006.01)	A 6 1 K 31/5415	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

審査請求 未請求 請求項の数 14 O L (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-133642 (P2018-133642)	(71) 出願人	504132272 国立大学法人京都大学 京都府京都市左京区吉田本町36番地1
(22) 出願日	平成30年7月13日 (2018.7.13)	(71) 出願人	504177284 国立大学法人滋賀医科大学 滋賀県大津市瀬田月輪町 (番地なし)
		(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
		(74) 代理人	100138863 弁理士 言上 憲一
		(74) 代理人	100138885 弁理士 福政 充睦
		(72) 発明者	小松 直樹 京都府京都市左京区吉田本町36番地1 国立大学法人京都大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光増感剤を担持した遷移金属ジカルコゲニドナノシートの合成及びそのがん光線療法への応用

(57) 【要約】

【課題】 光線治療法の有効性、リン酸緩衝液中での安定性、及び細胞培養培地中での安定性などに優れ、更にそれらの性質のバランスに優れる、新規な光線療法用薬剤及びその製造方法を提供する。

【解決手段】 光増感剤；及びその光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む、複合材料、並びにその複合材料を含む薬剤である。更に、バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤とを混合して、混合物を得ること；その混合物中の遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させること；及び光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む部分を分離することを含む、製造方法である。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光増感剤；及び

その光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む、複合材料。

【請求項 2】

光増感剤は、クロリン、バクテリオクロリン、ポルフィリン、フタロシアニン、及びフェノチアジニウム塩から選択される少なくとも 1 種を含む、請求項 1 に記載の複合材料。

【請求項 3】

遷移金属ダイカルコゲナイドは、モリブデン、タングステン、クロム、バナジウム、タリウム、ニオブ、チタン及び鉄から選択される遷移金属 (M) と、硫黄、セレン及びテルルから選択される第 16 族元素 (X) との化合物を含む、請求項 1 又は 2 に記載の複合材料。

10

【請求項 4】

光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの平均の厚さは、 $0.5 \sim 100 \text{ nm}$ である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の複合材料。

【請求項 5】

光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの面の平均最短径 / 平均厚さは、 $5 \sim 1000$ である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の複合材料。

【請求項 6】

光増感剤と遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの質量比 (光増感剤 / 遷移金属ダイカルコゲナイドナノシート) は、 $1 / 100 \sim 100 / 1$ である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の複合材料。

20

【請求項 7】

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の複合材料を含む、光線療法用薬剤。

【請求項 8】

がん治療用である、請求項 7 に記載の光線療法用薬剤。

【請求項 9】

バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤を混合して、混合物を得ること；

その混合物中の遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させること；及び

光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む部分を分離することを含む、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む複合材料の製造方法。

30

【請求項 10】

光増感剤とバルク遷移金属ダイカルコゲナイドの質量比 (光増感剤 / バルク遷移金属ダイカルコゲナイド) は、 $1000 / 1 \sim 1 / 10$ である、請求項 9 に記載の製造方法。

【請求項 11】

バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤を、媒体中で混合して、その媒体中の混合物を得ることを含む、請求項 9 又は 10 に記載の製造方法。

40

【請求項 12】

その混合物に超音波を照射して、遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させることを含む、請求項 11 に記載の製造方法。

【請求項 13】

超音波の照射は、 $0 \sim 80$ で、 $0.1 \sim 100$ 時間行う、請求項 12 に記載の製造方法。

【請求項 14】

光増感剤を担持する二硫化モリブデンナノシートを含む部分は、懸濁液を遠心分離して上澄み液を得ることを含む、請求項 9 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の製造方法。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイド及びその光線療法への応用に関する。より具体的には、本開示は、例えば、クロリン、バクテリオクロリン、ポルフィリン、フタロシアニン、フェノチアジニウム塩から選択される少なくとも1種を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む複合材料、複合材料の製造方法、複合材料を含む光線療法用薬剤、及びそれを用いる光線療法などに関する。

【背景技術】

【0002】

がんの光線療法 (phototherapy: P T) は、健康な組織への損傷及び副作用の点から、手術、放射線治療及び化学療法等の常套のがん治療アプローチを超える優位性のために、近年、非常に興味を持たれている (非特許文献1参照)。P Tは、光線力学療法 (photodynamic therapy: P D T) 及び光線熱療法 (photothermal therapy: P T T) を含み、光照射によってのみ活性化される領域特異的かつ非侵襲治療法である。従って、P Tは、通常の器官への損傷を最小にしながらかつ目的とするがんの治療を提示する (非特許文献2参照)。

【0003】

治療法の有効性を増すために、可能な限り選択的に光増感剤をがん細胞に届けるべきである。最近、向上された透過性 (又は浸透性) 及び保持効果 (enhanced permeability and retention effect: E P R効果) を利用することによる光増感剤のためのキャリア (carrier) として、種々のナノ材料の使用が試みられ、主に、一次元 (1 D) ナノロッド (nanorod)、二次元 (2 D) ナノシート (nanosheet) 及び三次元 (3 D) ナノ粒子 (nanoparticle) が報告されている (非特許文献2及び3参照)。

【0004】

最も典型的には、酸化グラフェン (graphene oxide: G O) が光増感剤を運ぶために広範に使用され、光増感剤は、クロリン e 6 (chlorine e6: C e 6)、ピロフェオホービド - a (pyropheophorbide-a: P P a)、及びハイポクレリン A 及び B (hypocrellin A and B: H A 及び H B) を含む。G Oは、近赤外線 (near-infrared light: N I R light) を吸収し、熱を発生するので、P D T 及び P T T のパイモダルな治療法を実現できると考えられる (非特許文献2及び3参照)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Z. Baomei, W. Yang, L. Jiyong and Z. Guangxi, Current Medicinal Chemistry, 2017, 24, 268-291.

【非特許文献2】B. Tian, C. Wang, S. Zhang, L. Feng and Z. Liu, ACS Nano, 2011, 5, 7000-7009.

【非特許文献3】P. Huang, C. Xu, J. Lin, C. Wang, X. Wang, C. Zhang, X. Zhou, S. Guo and D. Cui, Theranostics, 2011, 1, 240-250.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

最近、液相剥離による高いクロリン e 6 担持率 (能) を有するグラフェン - クロリン e 6 (graphene-chlorine e6: G - C e 6) 複合材料 (又は構造体) の極めて効率的な製造方法を我々は開発した。G - C e 6 複合材料は、他のナノ材料 - C e 6 複合材料より、がん細胞を殺すための極めて高い光線療法有効性 (7 ~ 75 倍高い) を示した。G - C e 6 複合材料は、リン酸緩衝液 (phosphate-buffered saline: P B S ; pH = 7 . 4) 中で安定であったが、細胞培養培地中では十分な安定性を有さず、相当速く C e 6 を放出した。このことが、G - C e 6 複合材料の in vivo での応用を妨げた (未発表)。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 7 】

従って、光線治療法の有効性、リン酸緩衝液中での安定性、及び細胞培養培地中での安定性などに優れ、更にそれらの性質のバランスに優れる、新たな複合材料、それを含む新規な光線療法用薬剤及びその製造方法が求められている。

【 0 0 0 8 】

本開示は、新規な光増感剤とキャリアとの複合材料（キャリア - 光増感剤複合材料）、それを含む光線療法用薬剤及びそれらの製造方法を提供することを目的とする。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 9 】

我々は、鋭意検討を重ねた結果、例示的な実施形態において、遷移金属ダイカルコゲナイド（例えば、二硫化モリブデン）のナノシートをキャリアとして使用し、それに光増感剤を担持した複合材料が得られることを見出した。更に、一実施形態において、そのような複合材料を含む薬剤は、がんなどに対する光線療法に使用できることを見出した。

10

【 0 0 1 0 】

本開示は、一の態様として、新規な複合材料を提供し、それは、
光増感剤；及び

その光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシート
を含む。

その複合材料を含む薬剤は、光線療法に好ましく使用することができ、がん光線療法に
更に好ましく使用することができる。

20

【 0 0 1 1 】

本開示は、他の態様において、新規な製造方法を提供し、それは、

バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤を混合して、混合物を得ること；

その混合物中のバルク遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して得られる遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させること；及び

光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む部分を分離すること
を含む、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む複合材料の製
造方法である。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 2 】

本開示の実施形態の複合材料は、光線治療法の有効性に優れ、リン酸緩衝液中での安定性に優れ、細胞培養液中での安定性に優れる。更に、担持された光増感材は、適度な速度で複合体から放出される。また、本開示の実施形態の複合材料の製造方法は、そのような複合材料を効率的に製造することができる。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 3 】

【 図 1 】 図 1 は、遊離のクロリン e 6 (C e 6) の水中での UV - V i s 吸収スペクトルと、実施例 1 のクロリン e 6 担持二硫化モリブデンナノシート (M o S ₂ - C e 6) の水中での UV - V i s 吸収スペクトルを示す。

【 図 2 】 図 2 は、実施例 1 のクロリン e 6 担持二硫化モリブデンナノシート (M o S ₂ - C e 6) の典型的な A F M 画像と高さのプロファイルを示す。

40

【 図 3 a 】 図 3 a は、660nm レーザ光を 2 分間照射することなく種々の濃度の遊離の C e 6、M o S ₂ - C e 6 及び G - C e 6 (クロリン e 6 担持グラフェン複合材料) と共に培養された HeLa 細胞の細胞生存率を示す。

【 図 3 b 】 図 3 b は、種々の濃度の遊離の C e 6、M o S ₂ - C e 6 及び G - C e 6 と一緒に培養された HeLa 細胞に 660nm レーザ光を 2 分間照射後の細胞生存率を示す。

【 図 4 】 図 4 は、4 . 0 μ g m L ⁻¹ の C e 6 の濃度で、遊離の C e 6 又は M o S ₂ - C e 6 と、4 時間培養し、洗浄した後の HeLa 細胞の共焦点蛍光画像 (confocal fluorescence images) を示す。赤と青の着色は、C e 6 の蛍光と D A P I で着色された細胞の核を各々示す。

50

【図5】図5は、遊離のCe6又はMoS₂-Ce6と一緒に24時間培養後、洗浄したHeLa細胞のCe6蛍光強度のフローサイトメトリー測定(FACS measurement)を示す。

【図6a】図6aは、時間に対する、細胞培養培地(DMEM+10%FBS)中でのMoS₂-Ce6の吸収スペクトルを示す。

【図6b】図6bは、細胞培養培地中での、MoS₂-Ce6からのCe6の放出プロファイルとG-Ce6からのCe6の放出プロファイルを示す。

【図6c】図6cは、PBS中での、MoS₂-Ce6からのCe6の放出プロファイルとG-Ce6からのCe6放出プロファイルを示す。

【発明を実施するための形態】

10

【0014】

本開示は、一の態様において、新たな複合材料を提供し、それは、光増感剤；及びその光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む、複合材料である。

【0015】

本明細書において、「光増感剤」とは、基質以外の物質で初めに光を吸収して励起され、その励起エネルギーをエネルギー移動や電子移動で基質に渡すことによって基質の反応を起こさせる化合物をいい、本開示が目的とする複合材料を得ることができる限り、特に制限されることはない。光増感剤は、一の実施形態において、光を吸収して、発熱し及び/又は活性酸素(ROS)を発生させることができる。

20

【0016】

光増感剤として、例えば、クロリン、バクテリオクロリン、ポルフィリン、フタロシアニン、フェノチアジニウム塩等を例示することができる。本開示の光増感剤としては、例えば、H. Abrahamse and M. R. Hamblin, Biochem. J. (2016) 473, 347-364に記載のTable1及びTable2等に例示された化合物から、当該光増感剤として適切なものと本明細書の記載を考慮して選択し、使用することができる。

【0017】

クロリンとして、例えば、フォスカン(m-テトラフドロキシフェニルクロリン:Fosc an, m-tetrahydroxyphenylchlorin)、ベルテポルフィン(ベンゾポルフィリン誘導体モノアシッドリングA:Verteporfin, benzoporphyrin derivative mono acid ring A)、クロリンe6(chlorin(e6))、モノアスパルチルクロリンe6(タラポルフィンナトリウム塩:Monoaspartyl chlorin(e6), talaporfin sodium)、HPPH(HPPH)等を例示できる。

30

【0018】

バクテリオクロリンとして、例えば、TOOKAD可溶WST-11(TOOKAD Soluble, WST-11)、LUZ11(LUZ11)、BC19(BC19)、BC21(BC21)等を例示することができる。

ポルフィリンとして、例えば、フォトフリン(Photofrin、フォトフリンの実際の構造は、エステル-及びエーテル-結合したダイマー及びオリゴマーの複雑な混合物である)、ALA-誘起プロトポルフィリンIX(ALA-induced protoporphyrin IX)、5,10,15,20-テトラキス(1-メチルピリジニウム-4-イル)ポルフィリントシレート(5,10,15,20-Tetrakis(1-methylpyridinium-4-yl)porphyrin tosylate)、XF70(XF70)等を例示できる。

40

【0019】

フタロシアニンとして、例えば、リポソマルZnPC(Liposomal ZnPC)、クロロアルミニウムスルホン化フタロシアニン(Chloroaluminium sulfonated phthalocyanine: CAS P)、シリコンフタロシアニン(Silicon phthalocyanine: PC4)、RLP068(RLP068)等を例示できる。

フェノチアジニウム塩として、例えば、メチレンブルー(Methylene Blue)、トルイジ

50

ンブルー 0 (Toluidine Blue 0)、PP904 (PP904) 等を例示できる。

【0020】

本明細書において、「遷移金属ダイカルコゲナイド (transition metal dichalcogenide)」とは、遷移金属 (M) と酸素以外の第 16 族元素 (X) (具体的には、硫黄、セレン及びテルル) との化合物をいい、その化学式は代表的には MX_2 で示される。MX で示される化合物であっても、本開示における遷移金属ダイカルコゲナイドの用途において適切な場合は、当該化合物は、遷移金属ダイカルコゲナイドに含まれるものとして使用してもよい。この化合物は、バルクの結晶を剥離してナノシートを形成可能であり、本開示が目的とする複合材料を得ることができる限り特に制限されることはない。

【0021】

本開示の例示的な実施形態において、遷移金属ダイカルコゲナイドは、モリブデン、タングステン、クロム、バナジウム、タリウム、ニオブ、チタン及び鉄から選択される遷移金属 (M) と、硫黄、セレン及びテルルから選択される第 16 族元素 (X) との化合物を含むことができる。

【0022】

ここで、 MX_2 で示される化合物に含まれる遷移金属 (M) として、例えば、モリブデン、タングステン、クロム、バナジウム、タリウム、ニオブ、チタン等を例示することができ、MX で示される化合物に含まれる遷移金属 (M) として、例えば、鉄等を例示することができる。

【0023】

遷移金属ダイカルコゲナイドは、遷移金属と硫黄、セレン及びテルルから選択される少なくとも 1 種の化合物を含むことができ、遷移金属と硫黄の化合物を含むことが好ましい。

【0024】

遷移金属と硫黄を含む遷移金属ダイカルコゲナイドとして、例えば、硫化モリブデン (MoS_2)、硫化タングステン (WS_2)、硫化バナジウム (VS_2)、硫化タリウム (TaS_2)、硫化ニオブ (NbS_2)、硫化チタン (TiS_2)、硫化鉄 (FeS) 等を例示できる。

遷移金属とセレンを含む遷移金属ダイカルコゲナイドとして、例えば、セレン化モリブデン ($MoSe_2$)、セレン化タングステン (WSe_2)、セレン化バナジウム (VSe_2)、セレン化タリウム ($TaSe_2$)、セレン化ニオブ ($NbSe_2$)、セレン化チタン ($TiSe_2$)、セレン化クロム ($CrSe_2$)、セレン化鉄 ($FeSe$) 等を例示できる。

遷移金属とテルルを含む遷移金属ダイカルコゲナイドとして、例えば、テルル化モリブデン ($MoTe_2$)、テルル化タングステン (WTe_2)、テルル化バナジウム (VTe_2)、テルル化タリウム ($TaTe_2$)、テルル化ニオブ ($NbTe_2$)、テルル化チタン ($TiTe_2$)、テルル化クロム ($CrTe_2$) 等を例示できる。

【0025】

本明細書において「ナノシート」とは、ナノオーダーの厚さを有する二次元構造体として把握される対象物質をいう。すなわち、ナノシートは、異方性を有する構造体であり、二次元方向の広がりとして定義される面と、その面の厚さとして把握される次元を有する構造体のうち、当該厚さがナノオーダーにあるものをいう。ここで、当該厚さは、代表的には、100 nm 以下であり、一実施形態においては、0.5 nm から 100 nm までに及ぶ。本開示に係るナノシートは、本開示が目的とする複合材料を得られる限り、特に制限されることはない。

【0026】

上記「二次元方向の広がりとして定義される面」は、正方形、長方形及び菱形等の矩形、円、楕円、及び他の閉じた曲線で表現される形状を有する面であってもよく、本発明が目的とする複合材料を得ることができる限り、面の形状は特に制限されることはない。

その面の中の二点間で、最も長い直線を最長径、短い直線を最短径として定義すること

10

20

30

40

50

ができる。本発明が目的とする複合材料を得ることができる限り、最長径及び最短径の長さは、特に制限されることはないが、最短径は、厚さより長いことが好ましい。

【0027】

本明細書において、「遷移金属ダイカルコゲナイドナノシート」とは、一実施形態において、遷移金属ダイカルコゲナイドを含むナノシートをいい、別の実施形態において、遷移金属ダイカルコゲナイドで実質的に形成されているナノシートをいう。

【0028】

光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの平均の厚さは、一の実施形態について、例えば、0.5～100nmでありえ、1～50nmでありえ、1～20nmでありえ、1～10nmでありえる。光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの平均の厚さは、複合材料の分散性、光増感剤の担持性、光治療法での有効性などを考慮して、適宜選択することができる。

10

【0029】

光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの面の平均の最長径は、本発明の実施形態において、例えば、0.1～10 μ mでありえ、0.1～5 μ mでありえ、0.1～2 μ mでありえ、0.1～1 μ mでありえる。光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの面の平均の最長径は、複合材料の分散性、光増感剤の担持性、光線療法での有効性などを考慮して、適宜選択することができる。

【0030】

光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの面の平均の最短長径は、複合材料の分散性、光増感剤の担持性、光線療法での有効性などを考慮して、適宜選択することができる。

20

光増感剤を担持した遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートの面の平均最短径と平均厚さとの比（平均最短径／平均厚さ）は、一の実施形態において、例えば、5～1000でありえ、10～500でありえ、20～200でありえ、10～100でありえる。

【0031】

遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに担持された光増感剤と、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートとの質量比（光増感剤／遷移金属ダイカルコゲナイドナノシート）は、複合材料の分散性、光増感剤の担持性、光線療法での有効性などを考慮して、適宜選択することができる。質量比は、例えば、1／100～100／1でありえ、1／10～10／1でありえ、1／5～5／1でありえ、1／4～4／1でありえ、1／3～3／1でありえ、1／2.5～2.5／1でありえ、1／2～2／1でありえる。

30

【0032】

光増感剤の遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートへの担持は、光増感剤が、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに付着しており、本開示が目的とする複合材料を得られる限り、担持の状態及びその担持方法などについて何ら制限されることはない。担持は、物理的及び／又は化学的方法でおこなうことができる。

【0033】

上述したような複合材料は、その複合材料を製造することができる限り、その製造方法及び製造条件などは、特に制限されることはないが、下記の製造方法で好ましく製造することができる。

40

【0034】

本開示は、他の態様において、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む複合材料の新たな製造方法を提供し、それは、

バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤を混合して、混合物を得ること；

その混合物中の遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させること；及び

光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む部分を分離することを含む、製造方法である。

この製造方法は、上述の複合材料を製造するために、好適に使用することができる。

50

【0035】

本開示の実施形態の製造方法は、バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤を混合して、混合物を得ることを含む。

混合方法は、本発明が目的とする複合材料を得ることができる限り、特に制限されることはない。例えば、媒体を使用して、攪拌又は振とう等によって混合してもよく、媒体を使用しないで固相同士で混合してもよい。

【0036】

本開示の実施形態の製造方法は、バルク遷移金属ダイカルコゲナイドと光増感剤を、媒体中で混合して、その媒体中の混合物を得ることを含むことができる。

本明細書において、媒体とは、代表的には、水系媒体をいい、いわゆる水、上水、イオン交換水、蒸留水、純水、超純水等を意味し、本開示が目的とする複合材料を得ることができる限り、他の媒体、例えば、有機溶媒等の他の溶媒などを適宜含むことができる。

本明細書においてバルク遷移金属ダイカルコゲナイドとは、遷移金属ダイカルコゲナイド結晶の塊、粒子状、粒状、粉末状等のナノシート状以外の形態の遷移金属ダイカルコゲナイド結晶をいい、本開示が目的とする複合材料を得ることができる限り、その形態は特に制限されることはない。

【0037】

光増感剤とバルク遷移金属ダイカルコゲナイドの質量比（光増感剤／バルク遷移金属ダイカルコゲナイド）は、実施形態において、例えば、1000／1～1／10でありえ、100／1～1／2でありえ、10／1～1／1でありえる。光増感剤／バルク遷移金属ダイカルコゲナイドは、複合材料の分散性、光増感剤の担持性、光線療法での有効性などを考慮して、適宜選択することができる。

【0038】

本開示の実施形態の製造方法は、その混合物中の遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させることを含む。本開示の実施形態の製造方法では、遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離させて、そのナノシートへの光増感剤の担持は、ワンポットで、行うことができる。

本開示が目的とする複合材料を得ることができる限り、遷移金属ダイカルコゲナイドを剥離して、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートに、光増感剤を担持させる方法は、特に制限されることはないが、例えば、媒体中の混合物に超音波を照射する方法等を例示することができる。

【0039】

混合物に超音波を照射する場合、超音波の強度、超音波の照射時間及び温度などは、本開示が目的とする複合材料を得ることができるかぎり、より具体的にいえば、バルク遷移金属ダイカルコゲナイドをナノシートにして、それに光増感剤を担持することができる限り、特に制限されることはない。

【0040】

超音波の照射は、本開示の実施形態の製造方法において、例えば、0～80で行うことができ、10～50で行うことができ、20～40で行うことができる。超音波の照射温度は、得られる複合材料の性質と製造の効率性などを考慮して、適宜選択することができる。

超音波の照射は、本発明の実施形態において、例えば、0.1～100時間行うことができ、0.5～30時間行うことができ、1～10時間行うことができる。超音波の照射時間は、得られる複合材料の性質と製造の効率性などを考慮して、適宜選択することができる。

【0041】

本開示の実施形態の製造方法は、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む部分を分離することを含む。この部分は、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含み、例えば、水系媒体等の他の物質を含むことができる。

この部分を分離する方法は、本開示が目的とする複合材料を製造することができる限り

10

20

30

40

50

、特に制限されることはない。

【0042】

この部分を分離する方法は、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを遠心分離する方法、濾過する方法、デカンテーションする方法を含むことができる。分離する方法は、得られる複合材料の性質と製造の効率性を考慮して、適宜選択することができる。

【0043】

本開示は、更なる態様において、上述の製造方法で得られる、光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む複合材料を提供する。光増感剤、担持、遷移金属ダイカルコゲナイドナノシート、複合材料などについて、上述の本明細書の記載を参照することができる。

10

【0044】

本開示は、好ましい態様において、上述の複合材料を含む、光線療法用薬剤（又は治療薬）を提供する。本開示の実施形態の薬剤は、通常薬剤に含まれる他の材料を含むことができる。

本開示の実施形態の光線療法用薬剤は、光線療法を使用できる疾患であれば特に制限されることなく種々の疾患に使用することができる。

更に、本開示は、上述の複合材料の製造方法を含む、光線療法用薬剤の製造方法を提供する。

【0045】

本開示の実施形態の光線療法用薬剤は、がん光線療法用薬剤（又は治療薬）として使用することができる。

20

本開示の実施形態のがん光線療法用薬剤は、より具体的には、例えば、肺がん、皮膚がん、脳腫瘍、大腸がん、肝がん、子宮がん、咽頭がん、舌がん、白血病などのがんに使用することができる。

【0046】

本開示の実施形態の光線療法用薬剤は、疾患（例えば、がん）の種類、疾患の部位の位置、光線の波長及び強度などによって、その光増感剤の濃度を適宜選択することができる。

【0047】

本開示は、更に好ましい態様において、上述の光線療法用薬剤を用いることを含む、光線療法を提供する。本開示の実施形態の光線療法は、上述の光線療法用薬剤を用いて対象細胞内に光増感剤を送ること、対象細胞に光照射して、対象細胞を殺すことを含む。光照射の条件は、対象細胞が十分に殺すことができる限り特に制限されることはなく、一般的に用いられている光照射条件であってよい。また、対象となる細胞によって、適宜調整することができる。

30

【0048】

本開示の実施形態の光線療法は、使用できる限り、適用される疾患は特に制限されることはないが、例えば、肺がん、皮膚がん、脳腫瘍、大腸がん、肝がん、子宮がん、咽頭がん、舌がん、白血病などのがん等の疾患を治療するために使用することができる。従って、本開示は、上述の光線療法用薬剤を用いる、がん光線療法を提供する。

40

【実施例】

【0049】

以下、本開示を実施例及び比較例により具体的かつ詳細に説明するが、これらの実施例は本開示の一態様にすぎず、本開示はこれらの例によって何ら限定されるものではない。尚、実施例の記載において、特に記載がない限り、溶媒を考慮しない部分を、質量部及び質量%の基準としている。

【0050】

本実施例で使用した試薬を以下に示す。

バルク二硫化モリブデン（ MoS_2 ）粉末は、和光純薬工業株式会社製を使用した。

50

クロリン e 6 (C e 6) は、米国のフロンティアサイエンティフィック社 (Frontier Scientific Inc., USA) から購入し、そのまま使用した。

【 0 0 5 1 】

クロリン e 6 担持二硫化モリブデンナノシート (M o S ₂ - C e 6) 含有ナノ複合材料の製造

バルク M o S ₂ (5 . 0 m g) 及び C e 6 (5 . 0 m g) をミリ Q 水 (2 0 m L) に入れて、15 で 3 6 時間、水浴中で超音波 (2 9 0 W) を照射した。得られた懸濁液を 3 0 0 0 r p m (1 0 2 9 g) で 1 時間遠心分離して、上澄み液として C e 6 担持 M o S ₂ ナノシート (M o S ₂ - C e 6) を含む水性分散物 (実施例 1 の複合材料) を得た。

【 0 0 5 2 】

バルク M o S ₂ と C e 6 の両方共、水への溶解性は低いが、M o S ₂ - C e 6 は、良好な水分散性を示した。これは、M o S ₂ - C e 6 中の電子移動によって誘起されるより大きな極性によると考えられる。

遠心分離後の、M o S ₂ - C e 6 分散物は、緑色を示した。これに対し、C e 6 を有さないバルク M o S ₂ は、無色の上澄み液を形成する。C e 6 は、剥離剤及び分散剤の二つの機能を示すと考えられる。

この複合材料について、下記の評価を行った。

【 0 0 5 3 】

< UV-Vis スペクトル測定 >

上述の上澄み液について、UV-Vis スペクトルを測定した。その UV-Vis スペクトルを図 1 に M o S ₂ - C e 6 として示す。ミリ Q 水中の遊離の (又は単独の) C e 6 の UV-Vis スペクトルも、図 1 に示す。

M o S ₂ - C e 6 の緑色分散物の UV-Vis スペクトルでは、C e 6 の Soret band (4 0 3 n m) と Q band (6 5 5 n m) が両方共に極めてブロード化し、Q band が 6 5 5 n m から 6 8 5 n m に著しくレッドシフトした。このことは、C e 6 が M o S ₂ ナノシートに担持されたナノ複合材料の形成を示す。

ベースラインの大きな上方へのシフトは、遠心分離後上澄み液中に M o S ₂ が存することを示す。

遊離の C e 6 の Q band に対応する吸収ピークを約 6 5 5 n m に認めることができなかった。このことは、上澄み液中に遊離の C e 6 は、ほとんど存在しないことを示す。

上述の M o S ₂ - C e 6 水性分散物は、1 月以上沈殿物を生じず、極めて安定であった。即ち、M o S ₂ - C e 6 は、水中で極めて安定であった。

【 0 0 5 4 】

< 複合材料中のクロリン e 6 担持率の測定 >

上述の上澄み液を分離後、残留沈殿物を D M S O で完全に洗浄し、洗浄液を組み合わせで吸収スペクトル測定を行った。沈殿物中のクロリン e 6 の量 (mp-Ce6) は、4 0 4 n m の吸収ピークによって定めた。上澄み中の C e 6 の量 (ms-Ce6) は、C e 6 の最初の量 (mi-Ce6) から mp-Ce6 を減ずることで、下記のように、計算することができる。

$$ms-Ce6 = mi-Ce6 - mp-Ce6$$

【 0 0 5 5 】

上澄み液中の M o S ₂ の量 (ms-MoS2) を決めるために、5 m L の上澄み液を、質量を予め測定したボトルに注いだ。オープン中で乾燥して、残渣の質量を測った。上澄み液 (2 0 m L) 中のナノ複合材料の質量 (ms-composite) を計算し、次のように、ms-MoS2 を計算した。

$$ms-MoS2 = ms-composite - ms-Ce6$$

【 0 0 5 6 】

最後に、M o S ₂ - C e 6 複合材料の C e 6 担持率は次式に基づいて定めた。

$$\text{担持率} = ms-Ce6 / ms-MoS2$$

M o S ₂ ナノシートのクロリン e 6 担持率 (又は担持能) は、1 2 1 質量 % と計算された。

10

20

30

40

50

【0057】

< ナノ複合材料の大きさ >

上述の水性分散物中の MoS_2 - Ce6 の大きさを、原子間力顕微鏡 (atomic force microscopy: AFM) で評価した。水系分散物中の Ce6 担持 MoS_2 ナノシートの典型的な AFM 画像と高さのプロファイルを図 2 に示した。大部分の Ce6 担持 MoS_2 ナノシートは、2.5 ~ 5.0 nm の厚さを有し、150 ~ 300 nm の側方サイズを有した。

単層の MoS_2 ナノシートの厚さは、0.8 ~ 1.0 nm であることが報告されているので、Ce6 担持 MoS_2 ナノシートは、数層の MoS_2 ナノシートを有すると考えられる。

【0058】

< インビトロ細胞実験 >

インビトロ細胞実験の前に、リン酸緩衝食塩水 (phosphate-buffered saline: PBS) 中での MoS_2 - Ce6 の安定性を確認した。上述の上澄み液の水性媒体 (ミリQ水) を PBS (pH = 7.4) で置き換えた。PBS 分散物の UV-Vis スペクトルを測定した。遊離の Ce6 と対応する吸収ピークが観察されなかったため、 MoS_2 - Ce6 からの Ce6 の放出はなく、 MoS_2 - Ce6 が PBS 中で安定であることが確認された。

【0059】

HeLa 細胞 (HeLa cells) をインビトロ実験のために使用した。細胞を、10% ウシ胎仔血清 (fetal bovine serum: FBS) 及び 100 U mL^{-1} ペニシリン及び 1% ストレプトマイシン (streptomycin) で補完 (強化) されたダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium: DMEM) 中で培養した。細胞培養の間、細胞を、5% CO_2 中 37 °C で培養した。

96 ウェル (凹み: well) を有するプレート中で培養した HeLa 細胞 (1 ウェル当たり 1×10^4 個の細胞) を、培地 (1 ウェル当たり $100 \mu\text{L}$) 中で、種々の Ce6 濃度の PBS 中の Ce6 又は MoS_2 / Ce6 分散物を用いて処理した。暗条件で 24 時間培養後、細胞を培地で 2 回洗浄し、室温 (20 °C) で 2 分間 0.14 W cm^{-2} の出力強度の 660 nm の光を照射した。暗条件で更に 24 時間培養後、細胞毒性を、CCK-8 キット (Cell Counting Kit-8) を用いてアッセイ (評価) した。細胞生存率を決定するための細胞毒性評価の参照として、光照射せず、Ce6 非存在での対照実験を行った、

【0060】

結果を、図 3 a 及び図 3 b に示した。

図 3 a は、2 分間の 660 nm レーザー光の照射をすることなく、種々の濃度の Ce6、 MoS_2 - Ce6 及び G - Ce6 (クロリン e6 担持グラフェン複合材料) と共に、HeLa 細胞を培養した場合、培養された HeLa 細胞の細胞生存率を示す。

図 3 b は、660 nm レーザー光を 2 分間照射して、種々の濃度の Ce6、 MoS_2 - Ce6 及び G - Ce6 と共に、HeLa 細胞を培養した場合、培養された HeLa 細胞の細胞生存率を示す。

尚、G - Ce6 の結果は、比較のために、Y. Chen, Y. Wu, B. Sun, S. Liu and H. Liu, Small, 2017, 13, 1603446 を参照した。

【0061】

図 3 a は、2 分間の光照射をすることなく HeLa 細胞を培養した場合、 MoS_2 - Ce6 と遊離の Ce6 の両方共、 $0.20 \mu\text{g mL}^{-1}$ までの Ce6 の全ての濃度で、HeLa 細胞への検知可能な毒性を全く示さないことを示す。従って、 MoS_2 - Ce6 は、細胞との良好な親和性 (相性) を示した。

【0062】

これに対し、 0.14 W cm^{-2} の出力強度の 660 nm の LED 光に HeLa 細胞を 2 分間暴露した場合、 MoS_2 ナノシートに担持された Ce6 と、遊離の Ce6 では、細胞の細胞生存率に顕著な相違が観察された。

図 3 b は、遊離の Ce6 は検討した全ての濃度で ($0.20 \mu\text{g mL}^{-1}$ まで) ほとんど細胞毒性を示さなかった (細胞生存率: 約 100%) が、 MoS_2 - Ce6 では 0.0

10

20

30

40

50

50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ の低濃度の Ce 6 で、95% 以上の HeLa 細胞を効果的に殺したこと（細胞生存率：5% 以下）を示す。

図 3 b に示すように、光照射による MoS₂ - Ce 6 の有効性は、G - Ce 6 より高いことが明らかである。

【0063】

< 共焦点蛍光顕微鏡検査 >

MoS₂ - Ce 6 を用いる光線療法の有効性は、細胞の Ce 6 吸収性と密接に関係すると考えられるので、遊離の Ce 6 と MoS₂ - Ce 6 の細胞吸収性を、共焦点レーザー走査顕微鏡法（confocal laser scanning microscopy: CLSM）を用いて評価した。

HeLa 細胞（4 - ウェルのラプテックチャンバースライド（4-well Lab Tek chamber slides）中、1 ウェル当たり 1×10^4 個の細胞）を、4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ の濃度の遊離の Ce 6 又は同濃度の MoS₂ - Ce 6 で処理した。4 時間の培養後、培地を除去し、細胞を PBS で 2 回洗浄し、その後パラホルムアルデヒドで固定化した。細胞核を、4', 6 - ジアミジノ - 2 - フェニルインドール（4', 6-diamidino-2-phenylindole: DAPI）を用いて染色後、共焦点レーザー走査顕微鏡（confocal laser scanning microscope）（日本のオリンパス社製）を用いた。

【0064】

結果を、図 4 に示した。図 4 は、4.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ の濃度の遊離の Ce 6 又は同濃度の MoS₂ - Ce 6 と一緒に、4 時間培養した HeLa 細胞の共焦点蛍光画像（confocal fluorescence images）を示す。図 4 の上段は、遊離の Ce 6 と培養した HeLa 細胞、図 4 の下段は、MoS₂ - Ce 6 と培養した HeLa 細胞である。左列は、青色の着色が観察され、これは DAPI によって着色された細胞の核を示す。中央列は、上段ではごく弱い赤色が、下段では強い赤色が観察された。これは、Ce 6 からの蛍光を示す。右列は、左列と中央列の組み合わせを示す。

【0065】

図 4 上段の遊離の Ce 6 と培養された細胞は、極めて弱い赤色の蛍光を示した（Cy 5 モード）。これは、極めて少量の Ce 6 しか細胞に吸収されていないことを意味する。これは、Ce 6 の負電荷と細胞膜の負電荷との間の電気的反発によるかもしれない。

これに対し、図 4 下段の MoS₂ - Ce 6 と共に培養された細胞は、細胞質内ではるかに強い蛍光を示す。これは、MoS₂ - Ce 6 が、細胞内に Ce 6 を運ぶための役割を果たすことを意味する。

【0066】

図 4 上段右は、実質的に青色のみが観察された。従って、遊離の Ce 6 と培養された細胞では、細胞の存在は確認されても、Ce 6 は存在しないことがより明確になった。

これに対し、図 4 下段右は、紫色が観察された。従って、MoS₂ - Ce 6 と培養された細胞では、細胞の存在と共に、Ce 6 の存在もより明確になった。

【0067】

< フローサイトメトリー分析（Flow cytometry analysis） >

細胞の Ce 6 の吸収を更にフローサイトメトリー（flow cytometry: FACS）で確認した。

細胞の Ce 6 の吸収をより視覚的に調べるために、その体積（1 ウェル当たり 2.0 mL）が異なることを除いて、インビトロ細胞実験の欄（細胞毒性アッセイ又は評価）で記載した方法と同様の方法で、HeLa 細胞を 12 - ウェルプレート中で Ce 6 又は MoS₂ - Ce 6 と共に培養した。PBS で 2 回洗浄後、プレートに接着している細胞をトリプシン（trypsin）で剥離、回収し、フローサイトメトリー分析（flow cytometry analysis）のために、細胞を 1 mL の PBS に分散した。1 ウェル当たり約 1 万の細胞を測定した。Ce 6 と MoS₂ - Ce 6 の細胞内への取り込みを分析するために、蛍光強度に対するその頻度又は数（FL4 - H モデル）を得た。

【0068】

図 5 は、Ce 6 又は MoS₂ - Ce 6 と共に 24 時間培養後、HeLa 細胞内の Ce 6 蛍光

10

20

30

40

50

強度のフローサイトメトリー測定 (FACS measurement) を示す。Ce6 で処理された細胞 (図5上) と、MoS₂-Ce6 で処理された細胞 (図5下) の間で明確な相違が認められた。両方共、濃度の増加に応じて蛍光強度の増加した細胞が増加したことを示したが、MoS₂-Ce6 で処理された細胞について更により蛍光強度が増加した細胞が増えたことが観察された。このことは、より多くのCe6 が、MoS₂ と共に細胞に吸収されて、Ce6 をより多く吸収した細胞が増えることを示す。このFACSの結果は、上述したCLSMを用いた評価結果と一致する。MoS₂-Ce6 は、細胞内へのCe6 の吸収を促進し、それは、MoS₂-Ce6 の光線療法の効果を向上させると考えられる。

【0069】

< 光熱効果の評価 >

MoS₂ の励起子遷移ピークの一つは、660 nm 付近に位置するので、細胞実験で660 nm の光を照射して、Ce6 とMoS₂ の両方を励起して、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) と熱の両方を発生させることを考えた。発生する熱は、PTT によってがん細胞を殺し、細胞のMoS₂-Ce6 の吸収を促進すると考えられる。

【0070】

MoS₂-Ce6 の光熱効果を室温で660 nm のLED光を照射して評価した。MoS₂-Ce6 のPBS溶液 (0.20 μg/mL のCe6 濃度を有する) を660 nm の光に2分間暴露した。温度計で実際の温度上昇を測定した。MoS₂-Ce6 を用いない対照実験を、同条件で行った。MoS₂-Ce6 を有するPBS溶液の温度上昇は1.2 であり、MoS₂-Ce6 を有さないPBS溶液の温度上昇は0.4 であった。

【0071】

Ce6 への660 nm の光照射による、一重項酸素の発生を、1,3-ジフェニルイソベンゾフランを用いて確認した。MoS₂-Ce6 による向上したがんPTは、PDTとPTTのシナジー効果によると結論づけられる。

【0072】

< インビトロでの光増感剤 (Ce6) の放出 >

MoS₂-Ce6 ナノ複合材料からCe6 の放出は、PDTに関する重要な工程なので、細胞培養培地 (DMEM + 10% FBS) 中でのCe6 放出工程を測定した。

光増感剤放出 (薬物放出) をDMEM (10% FBS) 中で、分散物の吸収スペクトルを測定した。上述の水性分散物の水性媒体をPBS (pH = 7.4) で置き換えた後、0.1 mL のMoS₂/Ce6 分散物を、インビトロ細胞実験で記載した3 mL の細胞培養培地 (DMEM + 10% FBS) に加えた。その後、得られた混合物をUV-Vis 吸光分光法によってモニターした。放出されたCe6 の濃度をQバンドでの吸光度を用いて計算した。

【0073】

図6aは、時間に対する、細胞培養培地 (DMEM + 10% FBS) 中でのMoS₂-Ce6 の吸収スペクトルを示す。

図6bは、細胞培養培地中での、MoS₂-Ce6 からのCe6 の放出プロファイルとG-Ce6 からのCe6 放出プロファイルを示す。

図6cは、PBS中での、MoS₂-Ce6 からのCe6 の放出プロファイルとG-Ce6 からのCe6 放出プロファイルを示す。PBS中でのG-Ce6 からのCe6 放出プロファイルは、G. Liu, H. Qin, T. Amano, T. Murakami and N. Komatsu, ACS Applied Materials & Interfaces, 2015, 7, 23402-23406 を参照した。

【0074】

図6aに示すように、単独のCe6 のSoretバンド及びQバンドに対応するピーク (各々、410 nm 及び667 nm) は、時間の経過とともに、上向きの矢印で示すように徐々に強度が増加した。これに対し、担持されたCe6 のQバンド (690 nm) の強度は、下向きの矢印で示すように徐々に減少した。

放出されたCe6 について、Qバンドの吸収強度を用いて定量化して、図6bに示すようなCe6 放出プロファイルを得た。MoS₂-Ce6 に担持されたCe6 は、4時間で

10

20

30

40

50

28%、22時間で57%が、 MoS_2 -Ce6から、各々放出された。

これに対し、細胞培養培地中で、G-Ce6に担持されたCe6は、その70%以上が、1.5時間以内に、G-Ce6から放出された。

尚、図6cに示すように、PBS中で、 MoS_2 -Ce6に担持されたCe6の、 MoS_2 -Ce6からの放出は、かなり遅くなることがわかる。

【0075】

図3に示すように、遊離のCe6は、細胞毒性をほとんど示さなかったので、 MoS_2 -Ce6に担持されたCe6が、G-Ce6に担持されたCe6より、ゆっくり放出されることは、光線療法の高い有効性に関する別の他の理由であり得るだろう。尚、G-Ce6から、速くCe6が放出されることはインビボでの応用を制限し得る。

10

従って、光線療法でのより有効性が高く、より安定性が高いことから、 MoS_2 -Ce6は、G-Ce6より優れる。

【0076】

水溶液に分散可能な MoS_2 -Ce6ナノ複合材料を、液相剥離に基づくワンポット方によって直接製造した。 MoS_2 -Ce6は、水中で極めて安定であるが、細胞培養培地中ではCe6を徐々に放出した。 MoS_2 -Ce6に担持されたCe6が、 MoS_2 -Ce6から徐々に放出されることと、660nmの光をCe6と MoS_2 の両方が吸収することは、 MoS_2 -Ce6ナノ複合材料が $0.050 \mu\text{g mL}^{-1}$ の低濃度で95%を超える癌細胞を殺すことを可能にすると考えられる。但し、 MoS_2 -Ce6は、光照射をしない場合、無毒性と考えられる。 MoS_2 は、Ce6を細胞に入れる役割を果たすと考えられる。 MoS_2 -Ce6は、PDTとPTTによって、ROSと熱を生ずる。 MoS_2 -Ce6は、有望なPT剤、特にがん治療に有望なPT剤を提供することが期待される。

20

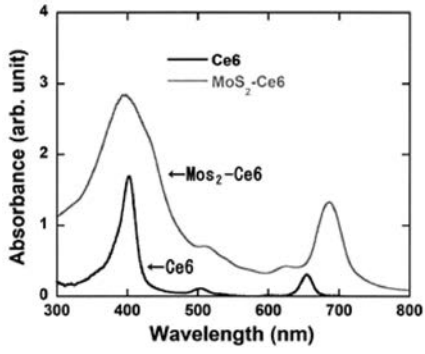
【産業上の利用可能性】

【0077】

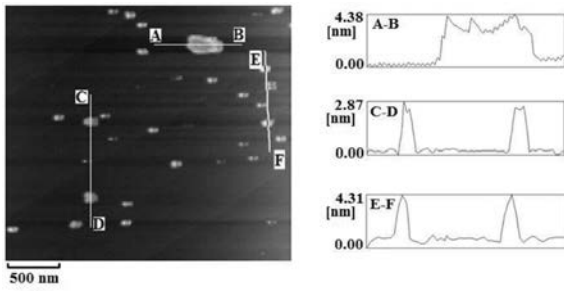
本開示は、光増感剤；及びその光増感剤を担持する遷移金属ダイカルコゲナイドナノシートを含む複合材料を提供する。本開示の実施形態の複合材料は、光線療法の有効性に優れ、リン酸緩衝液中での安定性に優れ、細胞培養液中での安定性に優れる。更に、それらの性質について、バランスよく優れる。また、本開示の実施形態の複合材料の製造方法は、そのような複合材料を効率的に製造することができる。その複合材料を含む薬剤は、光線療法に好ましく使用することができ、がん光線療法に更に好ましく使用することができる。

30

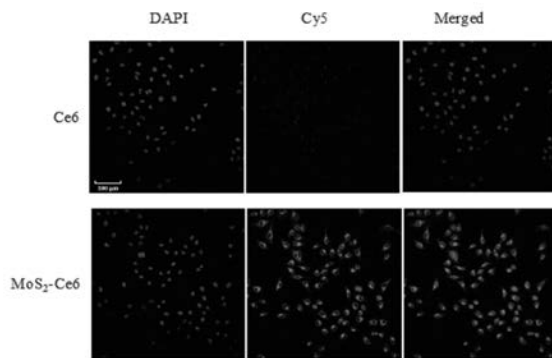
【 図 1 】



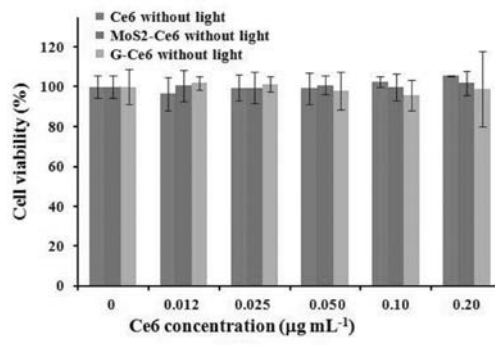
【 図 2 】



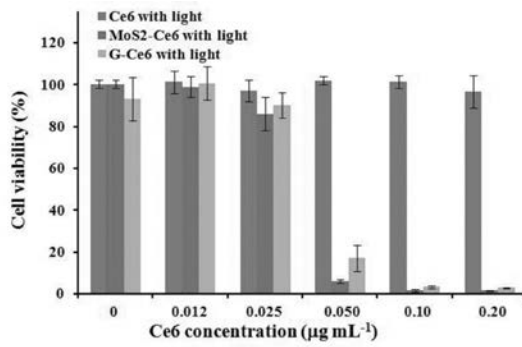
【 図 4 】



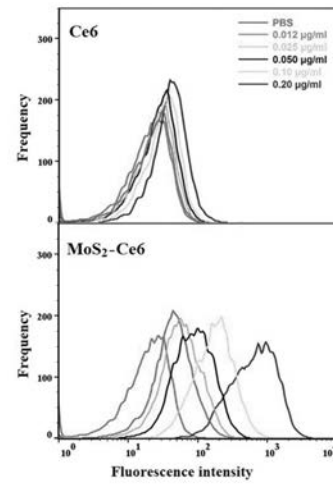
【 図 3 a 】



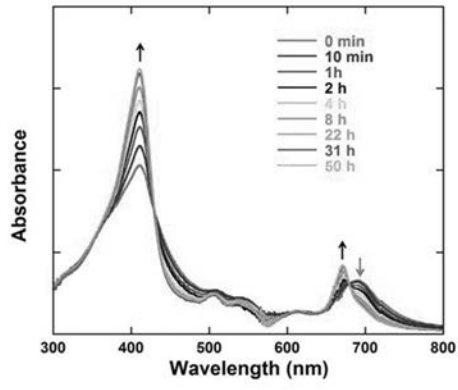
【 図 3 b 】



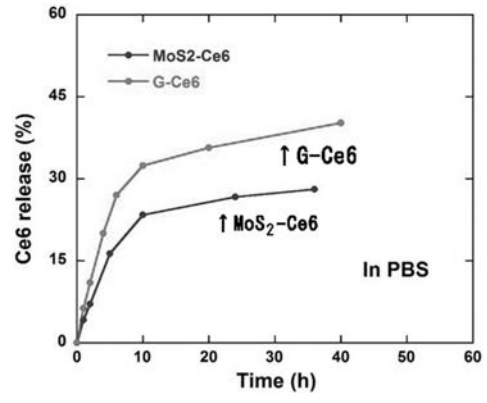
【 図 5 】



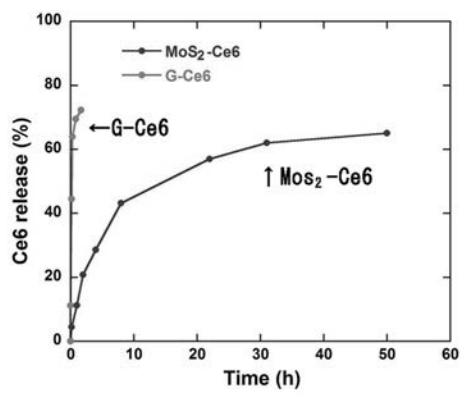
【 図 6 a 】



【 図 6 c 】



【 図 6 b 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 K	47/02	(2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 K	9/00	(2006.01)	A 6 1 K	9/00
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K	9/08

(72)発明者 劉 剛
京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内

(72)発明者 天野 創
滋賀県大津市瀬田月輪町 国立大学法人滋賀医科大学内

(72)発明者 吉野 芙美
滋賀県大津市瀬田月輪町 国立大学法人滋賀医科大学内

Fターム(参考) 4C076 AA12 CC27 DD21A
4C084 AA11 AA17 MA17 NA03 ZB26
4C086 AA01 AA02 BC05 BC89 MA02 MA05 MA17 NA03 ZB26