

- efficient gene transfer toward primary cells. *ChemMedChem* in press
- 3) R. Ideta, F. Tasaka, W. -D. Jang, N. Nishiyama, G. -D. Zhang, A. Harada, Y. Yanagi, Y. Tamaki, T. Aida, K. Kataoka, Nanotechnology-based photodynamic therapy for neovascular disease using a supramolecular nanocarrier loaded with a dendritic photosensitizer. *Nano Lett.* 5 (12) 2426-2431 (2005)
 - 4) K. Miyata, Y. Kakizawa, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, T. Watanabe, M. Kohara, K. Kataoka, Freeze-dried formulations for in vivo gene delivery of PEGylated polyplex micelles with disulfide crosslinked cores to the liver. *J. Control. Release* 109 (1-3) 15-23 (2005)
 - 5) N. Nishiyama, A. Iriyama, W. -D. Jang, K. Miyata, K. Itaka, Y. Inoue, H. Takahashi, Y. Yanagi, Y. Tamaki, H. Koyama, K. Kataoka, Light-induced gene transfer from packaged DNA enveloped in a dendrimeric photosensitizer. *Nat. Mater.* 4 (12) 934-941 (2005)
 - 6) X. Yuan, Y. Yamasaki, A. Harada, K. Kataoka, Characterization of stable lysozyme-entrapped polyion complex (PIC) micelles with crosslinked core by glutaraldehyde. *Polymer* 46 (18) 7749-7758 (2005)
 - 7) Y. Bae, W. -D. Jang, N. Nishiyama, S. Fukushima, K. Kataoka, Multifunctional polymeric micelles with folate-mediated cancer cell targeting and pH-triggered drug releasing properties for active intracellular drug delivery. *Molecular BioSystems* 1 (3) 242-250 (2005)
 - 8) K. Osada, Y. Yamasaki, S. Katayose, K. Kataoka, A synthetic block copolymer regulates S1 nuclease fragmentation of supercoiled plasmid DNA. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 44 (23) 3544-3548 (2005)
 - 9) S. Fukushima, K. Miyata, N. Nishiyama, N. Kanayama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, PEGylated polyplex micelles from triblock cationomers with spatially ordered layering of condensed pDNA and buffering units for enhanced intracellular gene delivery. *J. Am. Chem. Soc.* 127 (9) 2810-2811 (2005)
 - 10) X. Yuan, A. Harada, Y. Yamasaki, K. Kataoka, Stabilization of lysozyme-incorporated polyion complex micelles by the ω -end derivatization of poly(ethylene glycol)-poly(α , β -aspartic acid) block copolymers with hydrophobic groups. *Langmuir* 21 (7) 2668-2674 (2005)
 - 11) S. Takae, Y. Akiyama, H. Otsuka, T. Nakamura, Y. Nagasaki, K. Kataoka, Ligand density effect on biorecognition by PEGylated gold nanoparticles: regulated interaction of RCA120 lectin with lactose installed to the distal end of tethered PEG strands on gold surface. *Biomacromolecules* 6 (2) 818-824 (2005)
 - 12) Y. Bae, N. Nishiyama, S. Fukushima, H. Koyama, Y. Matsumura, K. Kataoka, Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-triggered drug release property: Tumor permeability, controlled subcellular drug distribution, and enhanced in vivo antitumor efficacy. *Bioconjug. Chem.* 16 (1) 122-130 (2005)
 - 13) W. -D. Jang, N. Nishiyama, G. -D. Zhang, A. Harada, D. -L. Jiang, S. Kawauchi, Y. Morimoto, M. Kikuchi, H. Koyama, T. Aida, K. Kataoka, Supramolecular nanocarrier of anionic dendrimer porphyrins with cationic block copolymers modified with poly(ethylene glycol) to enhance intracellular photodynamic efficacy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 44 (3) 419-423 (2005)
 - 14) H. Cabral, N. Nishiyama, S. Okazaki, H. Koyama, K. Kataoka, Preparation and biological properties of dichloro(1,2-diaminocyclohexane)platinum(II) (DACHPt)-loaded polymeric micelles. *J. Control. Release* 101 (1-3) 223-232 (2005)
2. 学会発表
 - 1) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, Society for Biomaterials, 30th Annual Meeting & Exposition, Memphis Cook Convention Center, Memphis, TN, USA, 2005. 4. 30 (招待講演)
 - 2) Kazunori Kataoka, Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery,

- 5th Retrometabolism Based Drug Design and Targeting Conference, Hakone Hotel Kowaki-en, Janapn, 2005. 5. 9 (招待講演)
- 3) 片岡一則, 高分子ナノミセルデバイスによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, インターフェックスジャパン 2005, 東京ビッグサイト, 東京, 2005. 5. 18 (招待講演)
 - 4) 片岡一則, 高分子ナノミセルによる薬物・遺伝子 DNA デリバリー, 第54回高分子学会年次大会, パシフィコ横浜, 神奈川, 2005. 5. 25 (招待講演)
 - 5) 片岡一則, 高分子ミセル型ナノキャリアによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, 東京肝臓シンポジウム, 東京プリンスホテル, 東京, 2005. 6. 4 (招待講演)
 - 6) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, ESF Research Conference 'Biological Surfaces & Interfaces, Hotel Eden Roc, Sant Feliu de Guixols, Spain, 2005. 6. 18 (招待講演)
 - 7) 片岡一則, 高分子ミセル型ナノキャリアによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, 第9回がん分子標的治療研究所会総会「新しいドラッグデリバリーシステムの開発」, 京都国立会館, 京都, 2005. 6. 30 (招待講演)
 - 8) 片岡一則, 遺伝子・核酸医薬デリバリーのための高分子ミセル型ナノキャリア設計, 「がん研究における RNAi の可能性」, 中央大学駿河台記念館, 東京, 2005. 7. 6 (基調講演)
 - 9) 片岡一則, ナノテクノロジーが拓く未来型 DDS~ピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計~, 第21回日本DDS学会ワークショップ「ナノテクノロジーの応用」, ハウステンボス全日空 JR ホテル, 長崎, 2005. 7. 23
 - 10) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, The 8th SPSJ International Polymer Conference (IPC2005), Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, 2005. 7. 29 (招待講演)
 - 11) 片岡一則, ナノバイオテクノロジーが拓く未来型 DDS~ピンポイント診断・治療のための高分子ミセル型ナノデバイス設計~, 第3回 Translational Medicine Seminar, 経団連ベストハウス, 静岡, 2005. 7. 30 (特別講演)
 - 12) 片岡一則, ナノバイオテクノロジーが拓くフロンティアメディシン~ピンポイント診断・治療のための高分子ナノデバイス設計~, 第43回茅コングレナンス, 八ヶ岳ロイヤルホテル, 山梨, 2005. 8. 23 (招待講演)
 - 13) Kazunori Kataoka, Smart polymeric micelles as nanocarriers for gene and drug delivery, 11th Asian Chemical Congress/13th General Assembly, Seoul, 2005. 8. 24 (招待講演)
 - 14) 片岡一則, 高分子ナノミセルによる薬物・遺伝子のピンポイント・デリバリー, 創薬薬理フォーラム第13回シンポジウム, 日本薬学会長井記念館, 東京, 2005. 9. 9 (招待講演)
 - 15) 片岡一則, ナノテクノロジーが拓く未来医療~高分子ナノミセルによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー~, 日本油化学会年会, 慶應大学矢吹キャンパス, 横浜, 2005. 9. 15 (特別講演)
 - 16) 片岡一則, バイオマテリアルが先導するナノ医療: ピンポイント診断・治療のためのナノキャリア設計, 第49回日本学術会議材料研究連合会議, 京大会館, 京都, 2005. 9. 16 (基調講演)
 - 17) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles As Nanocarriers For Gene, Oligonucleotides, and siRNA delivery, 4th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Kyushu University, Fukuoka, 2005. 9. 20 (招待講演)
 - 18) 片岡一則, ナノテクノロジーが拓く未来医療- ピンポイントデリバリーのためのナノデバイス設計-, 第53回日本産科婦人科学会北日本連合地方部会, 福井自治会館, 福井, 2005. 9. 30 (特別講演)
 - 19) Kazunori Kataoka, Block copolymer micelles as nanocarriers for gene and drug delivery -Challenge to intracellular nanomedicine-, 2005 Robinson Symposium, School of Pharmacy, University of Wisconsin, USA, 2005. 10. 14 (招待講演)
 - 20) Kazunori Kataoka, Nanomaterial and Its Medical Use: Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, 36th ICFA Advanced Beam Dynamics Workshop (Nanobeam 2005), Kyoto University-Uji Campus, Kyoto, 2005. 10. 19 (招待講演)
 - 21) 片岡一則, ナノテクノロジーが拓く未来医療~ピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計~, 北海道科学技術ネットワ

- ークセッション，京王プラザホテル札幌，札幌，2005. 10. 25 (基調講演)
- 22) 片岡一則，薬物・遺伝子ナノキャリアとしてのブロック共重合体ミセル～高分子が先導するナノ医療システム実現に向けて～，平成17年度日本化学会高分子化学コロキウム，秋田大学工学資源学部，秋田，2005. 10. 28 (招待講演)
- 23) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓く未来型DDS～ピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計～，第20回日本DDS学会創立20周年記念シンポジウム，お茶の水ガーデンパレス，東京，2005. 11. 8 (招待講演)
- 24) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓くフロンティアメディシン：ピンポイント診断・治療のためのナノキャリア設計，第14回日本コンピューター外科学会大会，海外職業訓練協会研修施設，千葉，2005. 11. 20 (招待講演)
- 25) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓く未来医療～ピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計～，(財)ヒューマンサイエンス振興財団第130回研究委員会セミナー，(財)ヒューマンサイエンス振興財団，東京，2005. 12. 6 (招待講演)
- 26) 片岡一則，ナノバイオテクノロジーが拓くフロンティアメディシン～ピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計～，理研シンポジウム (第6回コンビナトリアル・バイオエンジニアリング/ナノバイオテクノロジージョイントシンポジウム，理化学研究所，和光市，2006. 1. 12 (招待講演)
- 27) 片岡一則，ナノバイオテクノロジーが拓く未来医療～ピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計～，第1回ナノメディスン討論会，岡崎コンファレンスセンター，岡崎，2006. 2. 12 (招待講演)
77. ～薬物・遺伝子のピンポイントデリバリーのためのナノデバイス設計～，DDS熊本シンポジウム，熊本大学薬学部，熊本，2006. 3. 13 (招待講演)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 片岡一則，位高啓史，西山伸宏，福島重人，張祐銅，宮田完二郎，中西政崇，金山直樹，ポリカチオン荷電性ポリマー及び核酸のキャリアーとしての使用，特願 2005-035233
 - 2) 片岡一則，大庭誠，西山伸宏，位高啓史，福島重人，金山直樹，ペプチドリガンドを有するブロック共重合体，特願 2005-054260
 - 3) 片岡一則，斐潤秀，西山伸宏，福島重人，張祐銅，pH応答性高分子ミセルの調製に用いる新規ブロック共重合体及びその製造法の提供，特願 2005-125336

変形性関節症の治療・予防の開発（２）：骨髄間葉系幹細胞-磁性体トリポソーム複合体と外磁場を用いた Active Targeting 効果

分担研究者 越智 光夫（広島大学大学院医歯薬学総合研究科整形外科 教授）

研究要旨：関節軟骨はその解剖学的特徴により、自己修復能に著しく乏しい組織である。われわれはより低侵襲で効率的な軟骨再生を目指し、組織幹細胞に磁性体を結合させ、外磁場をかけることにより幹細胞を効率的に集積させ、軟骨修復を図る方法に着目した。細胞源としては最も臨床応用に近いと思われる骨髄間葉系幹細胞（BMC）を用いた。BMC-磁性体複合体を作製し、*in vitro*、*in vivo*の細胞集積実験および軟骨再生を検討した。*In vitro*および*in vivo*実験において、BMC-磁性体複合体は外磁場により効率的に集積し、良好な軟骨分化や軟骨再生を示すことが明らかとなった。本法は全く新しい低侵襲な Cell delivery system であり、今後の臨床応用が期待される。

A. 研究目的

近年失われた組織や臓器を自身の細胞を用いて再生させようとする再生医療の研究や臨床応用が進んでいる。適切な移植細胞と細胞増殖の足場である scaffold を使用し、組織工学的手法を用いて作製した組織移植による再生医療が注目されている。しかし、生体外で再構築された組織移植による治療はその移植方法に問題があり、関節内に移植する場合には関節切開などを要する侵襲の大きい手術になりやすい。一方、細胞の単独移植は関節内注入などが可能であり低侵襲であるが、損傷部への細胞集積効率に問題がある。われわれは組織幹細胞に磁性体を結合させ、外磁場をかけることにより幹細胞を効率的に集積させる方法を考案した。移植細胞としては骨髄間葉系幹細胞（BMC）に着目した。骨髄内には骨芽細胞、軟骨芽細胞、脂肪細胞など非血球系の中胚葉由来の細胞へと分化する間葉系幹細胞が存在する。最近では成人骨髄の間質細胞には ES 細胞と同じような多分化能を保持する BMC が存在することが確認され、再生医療における細胞源として注目されている。効率的な BMC の損傷部への集積を目指し、*in vitro* および *in vivo* で実験を行った。まず、*in vitro* では BMC-磁気ビーズ複合体を作製し、外磁場を用いた細胞の集積と軟骨分化誘導を検討した。また、*in vivo* では BMC に CD44 抗体を介して磁性体を封入したトリポソーム（ML）を結合させ、外磁場をかけることにより、細胞の関節内での局所集積と軟骨修復実験を行った。今回その研究成果について報告する。

B. 研究方法

（*in vitro* 実験）

Sprague-Dawley ラットを用いて、CD44 抗体を介した免疫磁気ビーズとラット BMC の複合体を作製した。24well plate の中央部分にネオジウム磁石を設置し、磁気ビーズ-BMC 複合体を播種後、細胞の集積を確認した。また、磁気ビーズ-BMC 複合体を播種後軟骨分化誘導を行い、磁気ビーズと複合させた BMC が軟骨分化可能であるかどうかについて検討した。外磁場をかけない群を対照群として検討した。

（*in vivo* 実験）

6週齢日本白色家兎の骨髄液から Dexter 法に従って BMC を回収した。磁性体を封入したトリポソームを調整し、抗 CD44 抗体を用いて免疫学的に BMC と結合させた。日本白色家兎の大腿骨顆部に軟骨全層欠損を作製し、ML-BMC 複合体を関節内注入し、損傷部直上から永久磁石（磁性密度 180mT）を 7 日間作用させた（CM 群）。ML-BMC 複合体を関節内注入したのみの群（C 群）、外磁場のみ作用させた群（M 群）も作製した。術後 4 週にて HE 染色、サフラン O 染色、トルイジンブルー染色、II 型コラーゲンに対する免疫染色による修復組織の組織学的検討を行った（各群 6 羽）。

（倫理面への配慮）

本基礎研究は広島大学動物実験施設の基準に従い行い、動物愛護に配慮した。

C. 結果

（*In vitro* 実験）

磁気ビーズ-BMC 複合体は外磁場の作用によ

り集積し, active targeting 効果が明らかとなった. また, 集積した磁気ビーズ-BMC 複合体に軟骨分化誘導を行うことにより, 良好な軟骨基質と II 型コラーゲンの産生を認めた.

(in vivo 実験)

組織学的には M 群では軟骨損傷部は線維軟骨で修復されていた. C 群の 1 羽 (16.7%) と CM 群の 3 羽 (50%) ではサフラニン 0 とトルイジンブルーに濃染する軟骨様組織で修復されており, 免疫組織学的にも II 型コラーゲンの発現も豊富であり, 硝子軟骨様であった.

D. 考察

BMC は 1) 骨髄穿刺液から容易に分離・培養することができる, 2) 自己細胞を用いるため免疫拒絶反応を避けることができる, 3) 胚性幹 (ES) 細胞のように生殖細胞を扱わないため倫理的問題が少ない, 4) 増殖が盛んで大量の細胞を得ることが可能であり, 遺伝子操作もしやすい, などの利点を有する. 組織の再生の細胞源として非常に有用であり, 現在のところ最も臨床応用に近い幹細胞と考えられる. 本研究により BMC-磁性体複合体と外磁場による新たな cell delivery system の有効性が示された. 本システムは細胞採取が簡単であり, 手術時も関節切開などの大きな処置が不要であり, 非常に低侵襲である. また, サイトカインをリポソームに封入させることによりサイトカインを局所に効率的に供給も可能である. 本方法は関節軟骨損傷のみならず, さまざまな中枢神経系, 心血管系などさまざまな組織修復に応用可能と思われる. 今後の発展が非常に期待される.

E. 結論

外磁場と BMC-磁性体複合体を用いた新しい cell delivery system の有効性を報告した. 本法は低侵襲であり, 今後の再生医療における新機軸となりうるものと思われる.

F. 健康危険情報

特になし.

G. 研究発表

1. 論文発表

Yanada S, Ochi M, Adachi N, Nobuto H, Agung M, Kawamata S. Effects of CD44 antibody- or RGDS peptide-immobilized magnetic beads on cell proliferation and chondrogenesis of mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A*. 2006 Mar 24; [Epub ahead of print]

2. 学会発表

(招待講演)

Mitsuo OCHI

Clinical results of Tissue-engineered Cartilage and Future Direction.

Australian Knee Society 28th Annual Meeting. 2005. 10. 8. Perth. Australia.

(招待講演)

越智 光夫

運動器の再生 骨・軟骨を中心に

第 32 回日本臨床バイオメカニクス学会

2005. 10. 28, 札幌市.

(講演)

越智 光夫

Tissue-engineering of Orthopaedic Surgery.

Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, 2006 2006. 1. 9

Hiroshima.

(招待講演)

Mitsuo OCHI

Clinical results of tissue-engineered cartilage and some thoughts about the future.

9th Advanced Arthroscopy Course, 2006. 1. 17, Courmayeur Italy.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

記載事項なし

2. 実用新案登録

記載事項なし

3. その他

記載事項なし

変形性関節症の診断法の開発（１）：画像診断の確立

分担研究者 守屋 秀繁（千葉大学大学院医学系研究院 整形外科 教授）

研究要旨：変形性膝関節症 (OA) では疾患が進行すると軟骨下骨の病的な変化が生ずるが、この変化が MRI では大腿骨顆部の輪郭の不整像として捉えられることを明らかにした。また、不整度を計測するソフトウェアを新たに開発し、不整度が OA の重症度を示す指標となることを示した。

A. 研究目的

変形性膝関節症 (OA) に対する画像診断では客観的な重症度の評価が期待できるが、従来までの画像診断の中心であるレントゲン検査では重症度を判定するには問題点が多い。そこで画像による客観的な重症度評価を可能とすべく、MRI を用いた新しい重症度評価法の確立を目的とした。

B. 研究方法

OA 膝患者の MRI 画像から軟骨下骨に相当する、大腿骨顆部の輪郭を画像処理により抽出した。抽出した輪郭に対し新たに作成したソフトウェアを用いて不整度を計測した。その後、不整度と膝機能スコアの関係性を調べた。また、変形性膝関節症に対し、人工膝関節置換術時に得られる試料より病理標本を作成し、術前の MRI 画像と比較検討を行った。

(倫理面の配慮：人工膝関節置換術に得られる試料に関しては手術に際し通常破棄される部位を用いての検討であり手術を受ける方の不利益になることはない。また術前に研究の目的を説明し同意を得た上で施行した。)

C. 結果

不整度と膝機能スコアには負の相関があり、不整度を計測することは OA の重症度を客観的に示す指標となる得ることがわかった。病理学的検討からは MRI 上、輪郭の不整が強い例では軟骨下骨に偽嚢包の形成などの変化が生じていることがわかった。

D. 考察

軟骨下骨の病的変化が OA の重症度を示す指標であることが、画像的、病理学的にも示された。新しい重症度評価の方法が確立したことで、治療法の有効性判定法や治療法選択時の指標とな

るものと考えられた。

E. 結論

新たに開発したソフトウェアにて OA の重症度を客観的に判定する方法を確立した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 佐粧孝久、守屋秀繁 「変形性膝関節症」 整形外科 診療実践ガイド 第 1 版 文光堂 2006 844-846
- 2) Watanabe A, Wada Y, Obata T, Sasho T, Ueda T, Tamura M, Ikehira H, Moriya H. Time course evaluation of reparative cartilage with MR imaging after autologous chondrocyte implantation. *Cell Transplantation* 14(9): 695-700, 2005
- 3) Sano S, Okawa A, Nakajima A, Tahara M, Fujita K, Wada Y, Yamazaki M, Moriya H, Sasho T. Identification of Pip4k2beta as a mechanical stimulus responsive gene and its expression during musculoskeletal tissue healing. *Cell Tissue Res.* 323(2): 245-52, 2006.
- 4) Sakai H, Sasho T, Wada Y, Sano S, Iwasaki J, Morita F, Moriya H. MRI of the popliteomeniscal fasciculi. *Am J Roentgenol.* 186(2): 460-6, 2006.
- 5) 佐粧孝久、和田佑一、田原正道、守屋秀繁 OA に対する鏡視下内側解離術の適応に対する考察 東日本整形災害外科学会誌 17: 151-5, 2005

2. 学会発表

- 1) Ogino, S; Sasho, T; Moriya, H et al. Origin of osteoarthritic knee pain. -immunohistochemical analysis of subchondral bone- 52nd Orthopaedic Research Society 2006. 3. 19-22 (Chicago, USA)
 - 2) Ochia N, Ohtori S, Sasho T, Moriya H, et al. Extracorporeal shock-wave therapy improves motor dysfunction and pain originating from knee osteoarthritis in rats 52nd Orthopaedic Research Society 2006. 3. 19-22 (Chicago, USA)
 - 3) Murata R, Nakagawa K, Ohtori S, Ochiai N, Sasho T, Wada Y, Moriya H. A trial of gene transfer augmented by radial shock wave for rabbit chondrocytes in vitro. 10th World Congress on Osteoarthritis. 2005. 12. 8-11 (Boston, USA)
 - 4) Ochia N, Ohtori S, Sasho T, Moriya H, et al. Extracorporeal shock-wave therapy improves motor dysfunction and pain originating from knee osteoarthritis. 10th World Congress on Osteoarthritis. 2005. 12. 8-11 (Boston, USA)
 - 5) Ogino S, Sasho T, Nakagawa K, Suzuki M, Tahara M, Ochiai N, Moriya H. Subchondral bone is an origin of osteoarthritic knee pain. 6th International Cartilage Repair Society 2006. 1. 9-11 (San Diego, USA)
 - 6) 佐粧孝久、守屋秀繁 シンポジウム変形性膝関節症の治療 「変形性膝関節症に対する鏡視下手術の適応と限界」 関西関節鏡・膝研究会 2006. 3. 4 大阪
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

変形性関節症の診断法の開発（２）：マーカーによる診断法の確立

分担研究者 山田 治基（藤田保健衛生大学整形外科 教授）

研究要旨：変形性膝関節症 (OA) の関節液中マーカーを分析することによって本症に対する代表的な保存療法であるヒアルロン酸注入療法の効果を予測することが可能となった。マーカーにより OA 治療に対する効果を予測することは OA に対する総医療コストの抑制に有効と考えられた。

A. 研究目的

変形性関節症 (OA) の治療上、最も医療コストのかかるのは関節の荒廃した症例に対する人工関節置換術であり、このような末期に至る症例をいかに少なくするかが限られた医療資源を活用する上で重要となってくる。すなわち多数の OA 患者のなかから将来の関節破壊の進行を早期に予知し、そのような症例には集約的治療を行うことが必要となる。また OA は有病率が高いことを考慮すると様々な治療に対する responder と non-responder を事前に判別することも不必要な医療を抑制する上で重要である。本研究では OA の病態把握、早期診断、治療効果判定などにおける関節マーカーの有用性を臨床的、実験的に検討することを目的としている。本年度は OA に対する代表的な保存療法であるヒアルロン酸 (HA) の関節内注入療法が本症の病態に及ぼす影響を与えているかを研究するとともに HA 注入療法の responder を関節マーカーを使用して事前に鑑別することが可能か否かを検討した。

B. 研究方法

膝 OA の診断のもとに MW 80 万の HA を毎週 1 回、9 回以上、膝関節に注入した 43 関節を対象とした。臨床症状は日整会膝 OA 治療成績判定基準 (JOA スコア) により評価した。疼痛については 100mm VAS を用いて別に評価した。術前と 4 週以降、最長 1 年後まで経時的に関節液を採取し、コンドロイチン 6 硫酸 (C6S) および 4 硫酸 (C4S) 濃度を高速液体クロマトグラフィーにより測定した。また、HA 結合能を有するアグリカン濃度を抗ケラタン硫酸抗体と抗 G1-ドメイン抗体を利用したプレート測定法により検討した。

(倫理面への配慮)

関節内注入療法は、通常、外来診療において有益かつ必要と判断される症例に対してのみ施行した。関節液はヒアルロン酸関節内注入療法

において、通常、廃棄されるものを使用し、患者に採取などに際して余分な負担がかからないようにした。

C. 結果

HA 注入後の C6S および C4S は有意差はないものの両者とも注入後 8 週より持続的な低下傾向を示した。HA 結合型アグリカンも C6S と同様に注入後は低下傾向を示した。注入前のマーカー値と注入後 1, 2 ヶ月における臨床症状改善との関係を検討すると、注入前 C6S 濃度と 4, 8 週後の JOA スコア改善度の間には有意な正の相関が認められた。即ち注入前 C6S の高いものほど JOA スコアの改善が良好であった。注入前 C4S 濃度については 8 週後の JOA スコア改善度との間にのみ有意な正の相関が認められた。即ち注入前 C4S の高いものほど JOA スコアの改善が良好であった。注入前アグリカン濃度については 4, 8 週後ともに JOA スコア改善度との間に正の相関が認められ、アグリカン濃度が高い症例ほど JOA スコア改善が良好であった。なお JOA スコア改善度との相関は C6S, C4S よりもアグリカン濃度との間に強く認められた。疼痛 VAS については注入前の C6S, C4S, アグリカンとの間に有意な相関は認められなかった。

D. 考察

本研究では有意差は明かでないものの HA 注入後に C6S および C4S などの低下傾向を認めた。一般に関節液中のアグリカンフラグメント濃度は、その合成と破壊の総和を反映している。今回の結果は HA 注入療法がアグリカン分解を抑制している可能性を示唆した。OA 関節液中 C6S は病期の進行により低下することが報告されている。これは関節液中のアグリカン由来マーカー濃度は一般に病期の進行により残存する軟骨量が減少することや軟骨細胞の代謝活性が減退することを受けて低下することを示している。今回の検討では

注入前における C6S, C4S および HA 結合型アグリカンの関節液中濃度が高い例ほど JOA スコア改善度が良好であった。本結果は HA 注入療法が有効であるためにはアグリカン代謝が維持されていること、すなわち軟骨が残存し、かつ活発に代謝を行っていることが前提になることを示唆している。

E. 結論

アグリカン由来フラグメントは HA 注入後に低下傾向を示した。注入前のアグリカン由来フラグメントが高いほど臨床症状改善が良好であった。以上の結果はアグリカン由来マーカーが HA の有効性予測に有効であることを示している。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hotta H. Yamada H. Takaishi H. Abe T. Morioka H. Kikuchi T. Fujikawa K. Toyama Y. Type II collagen synthesis in the articular cartilage of a rabbit model of osteoarthritis: expression of type II collagen C-propeptide and mRNA especially during early-stage osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Science*. 10 (6), 595-607, 2005
- 2) 山田治基、杉本春夫、金治有彦 ヒアルロン酸製剤の関節内注入療法の効果について *リウマチ科* 34 (3) 317-326, 2005

2. 学会発表

- 1) 杉本春夫, 寺田信樹, 山田治基 :アグリカン由来マーカーによる変形性膝関節症に対するヒアルロン酸注入療法の効果予測
第20回日本整形外科学会基礎学術集会
- 2) 杉本春夫, 山田治基, 水野祥二 :マーカーによる OA に対するヒアルロン酸注入療法の有効性予測 関節液中アグリカンと C6S の比較
第49回日本リウマチ学会総会
- 3) 杉本春夫, 寺田信樹, 山田治基 :変形性膝関節症の保存療法 高齢者の変形性膝関節症に対するヒアルロン酸注入療法の臨床効果
第105回中部日本整形外科災害外科学会

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
佐粧久、守屋秀繁	変形性膝関節症	守屋秀繁	整形外科診療実践ガイド	分光堂	東京	2006	844-846

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Oka H, Yoshimura N, Kinoshita H, Saiga A, Kawaguchi H, Nakamura K.	Decreased activities of daily living and associations with bone loss among aged residents in a rural Japanese community: The Miyama Study.	J Bone Miner Metab			in press
Chikazu D, Ohba S, Ogasawara T, Saijo H, Mori Y, Tomizuka K, Kawaguchi H, Yonehara Y, Susami T, and Takato T	Combination of platelet-rich plasma and cyclooxygenase-2 inhibitor potently stimulates bone marrow stromal cell proliferation in vitro.	Asian J Oral Maxillofac Surg			in press
Ogata N, Roth SI, Kawaguchi H, and Segre GV	Continuous activation of PKC by G α q in osteoblasts results in osteopenia by blocking osteoblast differentiation.	J Bone Miner Res			in press
Koshizuka Y, Ogata N, Shiraki M, Hosoi T, Seichi A, Takeshita K, Nakamura K, and Kawaguchi H	Distinct association of gene polymorphisms of estrogen receptor and vitamin D receptor with lumbar spondylosis in postmenopausal women.	Eur Spine J			in press

Shinoda Y, Yamaguchi M, Ogata N, Akune T, Kubota N, Yamauchi T, Terauchi Y, Kadowaki T, Takeuchi Y, Fukumoto S, Ikeda T, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, and Kawaguchi H	Regulation of bone formation by adiponectin through autocrine/paracrine and endocrine pathways.	J Cell Biochem			in press
Yamaoka H, Asato H, Ogasawara T, Nishizawa S, Takahashi T, Nakatsuka T, Koshima I, Nakamura K, Kawaguchi H, Chung UI, Takato T, and Kazuto Hoshi	Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials.	J Biomed Mater Res			in press
Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Nakamura K, and Kawaguchi H:	Grafting of biocompatible MPC polymer on cross-linked polyethylene liner surface for extending longevity of artificial hip joints.	Clin Orthop Rel Res			in press
Seichi A, Takeshita K, Kawaguchi H, Matsudaira K, Higashikawa A, Ogata N, and Nakamura K:	Neurological level diagnosis of cervical stenotic myelopathy.	Spine			in press
Yamada T, Kawano H, Koshizuka Y, Fukuda T, Yoshimura K, Kamekura S, Saito T, Ikeda T, Kawasaki Y, Azuma Y, Ikegawa S, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, Kato S, and Kawaguchi H	Carminerin contributes to chondrocyte calcification during endochondral ossification under physiological and pathological conditions.	Nat Med			in press
N. Nishiyama, Arnida, W. -D. Jang, K. Date, K. Miyata, K. Kataoka,	Photochemical enhancement of transgene expression by polymeric micelles incorporating plasmid DNA and dendrimer-based photosensitizer.	J. Drug Target.			in press

N. Kanayama, S. Fukushima, N. Nishiyama, K. Itaka, W. -D. Jang, K. Miyata, Y. Yamasaki, U. Chung, K. Kataoka,	PEG-based biocompatible block cationer with high-buffering capacity for the construction of polyplex micelles showing efficient gene transfer toward primary cells.	ChemMedChem				in press
Yanada S, Ochi M, Adachi N, Nobuto H, Agung M, Kawamata S.	Effects of CD44 antibody- or RGDS peptide-immobilized magnetic beads on cell proliferation and chondrogenesis of mesenchymal stem cells.	J Biomed Mater Res A.				In press
Oda H, Nakamura K, Matsushita T, Yamamoto S, Ishibashi H, Yamazaki T, Morimoto S	Clinical use of a newly developed calcium phosphate cement (XSB-671D).	J Orthop Sci	11	167-174		2006
Katagiri M, Ogasawara T, Hoshi K, Chikazu D, Kimoto A, Noguchi M, Sasamata M, Harada S, Akama H, Tazaki H, Chung UI, Takato T, Nakamura K, and Kawaguchi H	Suppression of adjuvant-induced arthritic bone destruction by cyclooxygenase-2 selective agents with and without inhibitory potency against carbonic anhydrase II	J Bone Miner Res	21	219-227		2006
Muraki S, Yamamoto S, Ishibashi H, Nakamura K	Factors associated with mortality following hip fracture in Japan.	J Bone Miner Metab	24	100-104		2006
Ogata T, Yamamoto S, Nakamura K, Tanaka S	Signaling axis in schwann cell proliferation and differentiation.	Mol Neurobiol	33	51-62		2006
Katagiri M, Ogasawara T, Hoshi K, Chikazu D, Kimoto A, Noguchi M, Sasamata M, Harada S, Akama H, Tazaki H, Chung UI, Takato T, Nakamura K, and Kawaguchi H	Suppression of adjuvant-induced arthritic bone destruction by cyclooxygenase-2 selective agents with and without inhibitory potency against carbonic anhydrase II.	J Bone Miner Res	21	219-227		2006

Yoshimura N, Kinoshita H, Hori N, Nishioka T, Ryujin M, Mantani Y, Miyake M, Takeshita T, Ichinose M, Yoshiida M, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, Cooper C	Risk factors for knee osteoarthritis in Japanese men: A case control study.	Modern Rheumatology	16	24-29	2006
Kugimiya F, Ohba S, Nakamura K, Kawaguchi H, and Chung UI	Physiological role of bone morphogenetic proteins in osteogenesis.	J Bone Miner Metab	24	95-99	2006
Tashiro T, Hiraoka H, Ikeda Y, Ohnuki T, Suzuki R, Ochi T, Nakamura K, Fukui N.	Effect of GDF-5 on ligament healing.	J Orthop Res	24(1)	71-79	2006
Hiraoka H, Kuribayashi S, Fukuda A, Fukui N, Nakamura K.	Endoscopic anterior reconstruction using a computer-assisted fluoroscopic navigation system.	J Orthop Sci	11(2)	159-166	2006
Sano S, Okawa A, Nakajima A, Tahara M, Fujita K, Wada Y, Yamazaki M, Moriya H, Sasho T	Identification of Pip4k2beta as a mechanical stimulus responsive gene and its expression during musculoskeletal tissue healing.	Cell Tissue Res	323(2)	245-52	2006
Sakai H, Sasho T, Wada Y, Sano S, Iwasaki J, Morita F, Moriya H.	of the popliteomeniscal fasciculi.	Am J Roentgenol	186(2)	460-6	2006
Matsuyama J, Ohnishi I, Sakai R, Suzuki H, Harada A, Besshi M, Masumoto T, Nakamura K	A new method for measurement of bone deformation by echo tracking.	Med Eng Phys	26		2005
Ohashi S, Ohnishi I, Kageyama T, Fukuda S, Tsuchiya A, Imai K, Matsuyama J, Nakamura K	Effect of vascularity on canine distracted tibial callus consolidation.	Clin Orthop Relat Res	438	253-259	2005
Matsuyama J, Ohnishi I, Kageyama T, Oshida H, Suwabe T, Nakamura K	Osteogenesis and angiogenesis in regenerating bone during transverse distraction: quantitative evaluation using a canine model,	Clin Orthop Relat Res	433	243-250	2005

Matsudaira K, Yamazaki T, Seichi A, Takeshita K, Hoshi K, Kishimoto J, Nakamura K	Spinal stenosis in grade 1 degenerative lumbar spondylolisthesis: a comparative study of outcomes following laminoplasty and laminectomy with instrumented spinal fusion.	J Orthop Sci	10	270-276	2005
Ohnishi I, Kurokawa T, Sato W, Nakamura K	Measurement of the tensile forces during bone lengthening.	Clin Biomech	20	421-427	2005
Ohnishi I, Sato W, Matsuyama J, Yajima H, Haga N, Kamegaya M, Minami A, Sato M, Yoshino S, Oki T, Nakamura K	Treatment of congenital pseudarthrosis of the tibia: A multicenter study in Japan.	J Pediatr Orthop	25	219-224	2005
Fujiwara S, Nakamura I, Higo R, Tajiri Y, Nakamura K, Oda H	A case report of repeated postoperative laryngeal obstruction due to bilateral cricoarytenoid joint involvement in rheumatoid arthritis.	Mod Rheumatol	15	123-125	2005
Hikita A, Kdomo Y, Dhikuda H, Fukuda A, Wakeyama H, Yasuda H, Nakamura K, Oda H, Miyazaki T, Tanaka S	Identification of an alternatively spliced variant of Ca ²⁺ -promoted Ras inactivator as a possible regulator of RANKL shedding.	J Biol Chem.	16	41700-41706	2005
Tanaka S, Nakamura K, Takahashi N, Suda T	Role of RANKL in physiological and pathological bone resorption and therapeutics targeting the RANKL-RANK signaling system.	Immunol Rev	208	30-49	2005
Akiyama T, Miyazaki T, Bouillet P, Nakamura K, Strasser A, Tanaka S.	In vitro and in vivo assays for osteoclast apoptosis.	Biol Proced Online	7	48-59	2005
Matsuyama J, Ohnishi I, Sakai R, Suzuki H, Harada A, Besshi M, Masumoto T, Nakamura K	A new method for measurement of bone deformation by echo tracking.	Med Eng Phys	26		2005

Fukuda A, Hikita A, Wakeyama H, Akiyama T, Oda H, Nakamura K, Tanaka S	Regulation of osteoclast apoptosis and motility by small GTPase binding protein Rac1.	J Bone Miner Res	20	2245-2253	2005
Mototani H, Mabuchi A, Saito S, Fujioka M, Iida A, takatori Y, Kotani A, Kubo T, Nakamura K, Sekine A, Murakami Y, Tsunoda T, Notoya K, Nakamura Y, Ikegawa S	A functional single nucleotide polymorphism in the core promoter region of CALM1 is associated with hip osteoarthritis in Japanese.	Hum Mol Genet	14	1009-1017.	2005
Kizawa H, Kou I, Iida A, Sudo A, Miyamoto Y, Fukuda A, Mabushi A, Kotani A, Kawakami A, Yamamoto S, Ushida A, Nakamura K, Kotoya K, Nakamura Y, Ikegawa S	An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogenesis and increases susceptibility to osteoarthritis.	Nat Genet	37	138-144.	2005
Yosihmura N, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H	Epidemiology of hip fracture in Japan: Incidence and risk factors.	J Bone Miner Metab	23 suppl	78-80	2005
Fujiwara S, Sone T, Yamazaki K, Yoshimura N, Nakatuska K, Masunari N, Fujita S, Kushida K, Fukunaga M	Heel Bone Ultrasound Predicts Non-spine Fracture in Japanese Men and Women.	Osteopos Int	16	2107-2112	2005
Chikuda H, Kugimiya F, Hoshi K, Ikeda T, Ogasawara T, Kamekura S, Ogata N, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H	Mutation in cGMP-dependent protein kinase II causes dwarfism in a rat mutant KMI through uncoupling of proliferation and differentiation of chondrocytes.	Bone Miner Metab	23	200-204	2005
Takeshita K, Seichi A, Akune T, Kawamura N, Kawaguchi H, and Nakamura K	Can laminoplasty maintain the cervical alignment even when the C2 lamina is contained.	Spine	30	1294-1298	2005

Anamizu Y, Kawaguchi H, Seichi A, Yamaguchi S, Kawakami E, Kanda N, Matsubara S, Kuro-o M, Nabeshima Y, Nakamura K, and Oyanagi K	<i>Klotho</i> insufficiency causes decrease of ribosomal RNA gene transcription activity, cytoplasmic RNA and rough ER in the spinal anterior horn cells.	Acta Neuropathol	109	457-66	2005
Yamaguchi M, Ogata N, Shinoda Y, Akune T, Kamekura S, Terauchi Y, Kadowaki T, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, and Kawaguchi H	Insulin receptor substrate-1 is required for bone anabolic function of parathyroid hormone in mice.	Endocrinology	146	2620-2628	2005
Kawaguchi H, Akune T, Yamaguchi M, Ohba S, Ogata N, Chung UI, Kubota N, Terauchi Y, Kadowaki T, and Nakamura K	Distinct effects of PPAR γ insufficiency on bone marrow cells, osteoblasts, and osteoclastic cells.	J Bone Miner Metab	23	275-279	2005
Yano F, Kugimiya F, Ohba S, Ikeda T, Chikuda H, Ogasawara T, Ogata N, Takato T, Nakamura K, Kawaguchi H, Chung UI	The canonical Wnt signaling pathway promotes chondrocyte differentiation in a Sox9-dependent manner.	Biochem Biophys Res Commun	333	1300-1308	2005
Moro T, Ogasawara T, Chikuda H, Ikeda T, Ogata N, Maruyama Z, Komori T, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, Okayama H, and Kawaguchi H	Inhibition of Cdk6 expression through p38 MAP kinase is involved in differentiation of mouse prechondrocyte ATDC5.	J Cell Physiol	204	927-933	2005
Kamekura S, Hoshi K, Shimoaka T, Chung UI, Chikuda H, Yamada T, Uchida M, Ogata N, Seichi A, Nakamura K, and Kawaguchi H	Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability.	Osteoarthritis Cartilage	13	632-641	2005

Seichi A, Takeshita K, Nakajima S, Akune T, Kawaguchi H, Nakamura K:	Revision cervical spine surgery using transarticular or pedicular screws under a computer-assisted image-guidance system.	J Orthop Sci	10	385-390	2005
Seichi A, Takeshita K, Kawaguchi H, Kawamura N, Higashikawa A, and Nakamura K	Image-guided surgery for thoracic ossification of the posterior longitudinal ligament	J Neurosurg Spine	3	165-168	2005
Ikeda T, Kawaguchi H, Kamekura S, Ogata N, Mori Y, Nakamura K, Ikegawa S, and Chung UI	Distinct roles of SOX5, SOX6 and SOX9 in different stages of chondrogenic differentiation.	J Bone Miner Matab	23	337-340	2005
Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P, McGuinness OP, Chikuda H, Yamaguchi M, Kawaguchi H, Shimomura I, Takayama Y, Herz J, Kahn CR, Rosenblatt KP, and Kuro-o M	Suppression of aging in mice by the hormone Klotho.	Science	309	1829-1833	2005
Kugimiya F, Kawaguchi H, Kamekura S, Chikuda H, Ohba S, Yano F, Ogata N, Katagiri T, Harada Y, Azuma Y, Nakamura K, and Chung UI	Involvement of endogenous bone morphogenetic protein (BMP)2 and BMP6 in bone formation.	J Biol Chem	280	35704-35712	2005
Kugimiya F, Yano F, Ohba S, Igawa K, Nakamura K, Kawaguchi H, and Chung UI	Mechanism of osteogenic induction by FK506 via BMP/Smad pathways.	Biochem Biophys Res Commun	338	872-879	2005
Masuda H, Chikuda H, Suga T, Kawaguchi H, and Kuro-o M	Regulation of multiple ageing-like phenotypes by inducible <i>klotho</i> gene expression in <i>klotho</i> mutant mice.	Mech Ageing Dev	126	1274-1283	2005

Kugimiya F, Chikuda H, Kamekura S, Ikeda T, Hoshi K, Ogasawara T, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H	Involvement of cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase II in chondrocyte hypertrophy during endochondral ossification.	Mod Rheumatol	15	391-396	2005
Takahashi T, Ogasawara T, Kishimoto J, Liu G, Asato H, Nakatsuka T, Uchinuma E, Nakamura K, Kawaguchi H, Takato T, and Hoshi K	Synergistic effects of FGF-2 with insulin or IGF-I on the proliferation of human auricular chondrocytes.	Cell Transplant	14	683-693	2005
R. Ideta, F. Tasaka, W. -D. Jang, N. Nishiyama, G. -D. Zhang, A. Harada, Y. Yanagi, Y. Tamaki, T. Aida, K. Kataoka,	Nanotechnology-based photodynamic therapy for neovascular disease using a supramolecular nanocarrier loaded with a dendritic photosensitizer.	Nano Lett.	5 (12)	2426-2431	2005
K. Miyata, Y. Kakizawa, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, T. Watanabe, M. Kohara, K. Kataoka,	Freeze-dried formulations for in vivo gene delivery of PEGylated polyplex micelles with disulfide crosslinked cores to the liver.	J. Control. Release	109 (1-3)	15-23	2005
N. Nishiyama, A. Iriyama, W. -D. Jang, K. Miyata, K. Itaka, Y. Inoue, H. Takahashi, Y. Yanagi, Y. Tamaki, H. Koyama, K. Kataoka,	Light-induced gene transfer from packaged DNA enveloped in a dendrimeric photosensitizer.	Nat. Mater	4 (12)	934-941	2005
X. Yuan, Y. Yamasaki, A. Harada, K. Kataoka,	Characterization of stable lysozyme-entrapped polyion complex (PIC) micelles with crosslinked core by glutaraldehyde.	Polymer	46 (18)	7749-7758	2005
Y. Bae, W. -D. Jang, N. Nishiyama, S. Fukushima, K. Kataoka,	Multifunctional polymeric micelles with folate-mediated cancer cell targeting and pH-triggered drug releasing properties for active intracellular drug delivery.	Molecular BioSystems	1 (3)	242-250	2005
K. Osada, Y. Yamasaki, S. Katayose, K. Kataoka, A	synthetic block copolymer regulates S1 nuclease fragmentation of supercoiled plasmid DNA. Angew.	Chem. Int. Ed. Engl	44 (23)	3544-3548	2005

S. Fukushima, K. Miyata, N. Nishiyama, N. Kanayama, Y. Yamasaki, K. Kataoka,	PEGylated polyplex micelles from triblock cationomers with spatially ordered layering of condensed pDNA and buffering units for enhanced intracellular gene delivery.	Am. Chem. Soc	127 (9)	2810-2811	2005
X. Yuan, A. Harada, Y. Yamasaki, K. Kataoka,	Stabilization of lysozyme-incorporated polyion complex micelles by the ω -end derivatization of poly(ethylene glycol)-poly(α , β -aspartic acid) block copolymers with hydrophobic groups.	Langmuir	21 (7)	2668-2674	2005
S. Takae, Y. Akiyama, H. Otsuka, T. Nakamura, Y. Nagasaki, K. Kataoka,	Ligand density effect on biorecognition by PEGylated gold nanoparticles: regulated interaction of RCA120 lectin with lactose installed to the distal end of tethered PEG strands on gold surface.	Biomacromolecules	6 (2)	818-824	2005
Y. Bae, N. Nishiyama, S. Fukushima, H. Koyama, Y. Matsumura, K. Kataoka,	Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-triggered drug release property: Tumor permeability, controlled subcellular drug distribution, and enhanced in vivo antitumor efficacy.	Bioconjug. Chem.	16 (1)	122-130	2005
W. -D. Jang, N. Nishiyama, G. -D. Zhang, A. Harada, D. -L. Jiang, S. Kawauchi, Y. Morimoto, M. Kikuchi, H. Koyama, T. Aida, K. Kataoka,	Supramolecular nanocarrier of anionic dendrimer porphyrins with cationic block copolymers modified with poly(ethylene glycol) to enhance intracellular photodynamic efficacy. Angew.	Chem. Int. Ed. Engl.	44 (3)	419-423	2005