

200720040 A

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

新戦略に基づく抗がん剤の開発に関する研究

平成19年度 総括研究報告書

主任研究者 松村 保広

平成20(2008)年 3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
新戦略に基づく抗がん剤の開発に関する研究	1
松村 保広	
II. 分担研究報告	
1. 腫瘍脈管の特性に基づく DDS 製剤の開発とトランスレーショナル研究	8
松村 保広	
2. 難治ガン治療のための高分子ミセル型ナノキャリアの開発	11
片岡 一則	
3. オキサリプラチン(L-OHP)のリポソーム製剤化による免疫抑制の回避と がん免疫療法併用の有用性	18
丸山 一雄	
4. 栄養飢餓耐性機構の治療応用	23
土原 一哉	
5. 微生物代謝産物からの抗がん剤の開発に関する研	26
百瀬 功	
6. 腫瘍特異的微小環境適応シグナル伝達を利用した抗がん剤の開発	27
上野 隆	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

総括研究報告書

新戦略に基づく抗がん剤の開発に関する研究

主任研究者 松村 保広

（国立がんセンター東病院 臨床開発センター がん治療開発部）

敵（がん）との戦いにおいて、收容所（ペトリ皿）に敵を集め弾丸（抗腫瘍剤）で殺すことは容易である、しかしながら、実際のがんとの戦いにおいては、敵は幾多の防御壁を築いており、どこにひそんでいるかさえわからない。現在のがん治療は弾丸を無差別に撃ちまくっているような状況である。そこで、鉄砲をもった兵隊を適地（がん組織）におくりこみ攻撃するというドラッグデリバリーシステム（DDS）の戦略が必要となる。本研究では腫瘍の脈管と間質の特性に立脚した DDS の基礎、臨床、トランスレーショナル研究を行った。

土原一哉 国立がんセンター東病院 臨床開発  
センターがん治療開発部 室長  
片岡一則 東京大学大学院工学系研究科 教授  
丸山一雄 帝京大学薬学部 教授  
上野 隆 順天堂大学医学部 准教授  
百瀬 功 財団法人微生物化学研究会 微生物化  
学研究センター沼津創薬医科学研究所

を封入したリポソーム製剤（L-OHP  
TF-PEG リポソーム）による化学療法と、腫瘍組織血管内皮細胞を標的とした DC ワクチンによる免疫療法との併用療法の有用性について検討する。

がんの栄養飢餓耐性獲得のメカニズムが明らかとなれば、それを標的とする腫瘍組織特異的な新たな抗がん療法の開発が期待される。栄養飢餓時に誘導されるオートファジーと栄養飢餓耐性との関連を検討する。栄養飢餓選択的細胞毒性物質は放線菌、カビの培養液および化合物ライブラリーより探索を行なう。

A. 研究目的

DDS 製剤の SN-38 内包ミセル、NK012 の非臨床モデルにおける薬効、併用効果につき臨床試験へ反映するといった DDS 製剤のトランスレーショナル研究を行う。オキサリプラチンの中間活性体である DACHpt のミセル内包体の基礎的研究を行う。また第2世代の DDS 製剤の作成のためそのパイロット分子としてのがん特異抗体の作製を行う。リポソームに抗腫瘍薬であるオキサリプラチン（L-OHP）

B. 研究方法

1) 腫瘍血管が少ないがんと腫瘍血管の多いがん両者で NK012 の薬効試験を CPT-11 との比較でおこなった。

2) 第2世代 DDS 創生のための抗体作製を行った。

3) DACHPt 内包ミセルは、PEG-P(Glu) 12-20 (PEG の分子量 12,000; ポリグルタミン酸[P(Glu)]重合度 20)と DACHPt を水中で120時間反応させることによって粒径 36nm の単分散な粒子に調製した。腫瘍内分布と抗腫瘍効果につき検討した。

4) リポソームは Ethanol Injection 法により調製した。平均粒子径約 150 nm のリポソームを得た。TF を NHS 活性化エステルに反応させ、L-OHP TF-PEG リポソームを得た。

Colon26CM-HU VEC 抗原を調製し、マウス骨髄細胞由来の樹状細胞 (DC) にパルスした。

Colon26 担がんマウスに L-OHP 封入 TF-PEG リポソームを尾静脈投与した。Colon26CM-HUVEC pulsed DC は2回目の L-OHP の投与日とその7日後に皮内投与した。

5) 栄養飢餓耐性を示す大腸がん細胞において、GFP-LC3 タンパク質の細胞内局在の蛍光顕微鏡による観察により検討した。オートファジー阻害による細胞死誘導を検討した。大腸癌外科切除標本におけるオートファジー活性化の程度を LC-3 タンパク質の免疫染色により評価した。

6) 栄養培地として DMEM (10% FBS 含) を、栄養飢餓培地として NDM

(DMEM からグルコース、アミノ酸を除いた培地に、透析し FBS を 10% 含む) を用いて、栄養飢餓選択的細胞毒性物質は放線菌、カビの培養液および化合物ライブラリーより探索を行った。

### C. 研究結果

1) 腎がん抗腫瘍効果では NK012 が Capan1 においても PSN1 においてもすべての腫瘍が消失したのに対し、CPT-11 では単なる増殖抑制効果のみであった。HPLC および蛍光イメージングによる腫瘍内分布の解析では、CPT-11 は腫瘍内濃度のピークが投与後1時間でピークになり6時間では腫瘍内から完全に消失したのに対し、NK012 は24時間後がピークで3日以上高濃度を保っていた。

腎がんに対する抗腫瘍効果に関しては、VEGF 産生腫瘍である Renca 腎がん細胞の肺転移モデルにおいて CPT-11 投与群で抗腫瘍効果は認められたものの生存率ではコントロールとの間で有意差は認めなかった。一方、NK012 投与群においては、著しい抗腫瘍効果のみでなく、生存においても有意差を認めた ( $p < 0.001$ )。

大腸がん細胞株 HT-29 に対する皮下腫瘍における比較において NK012/5-FU 投与群ではすべての腫瘍の消失が得られ再発も認められなかった。細胞周

期解析において、NK012 が CPT-11 に比べて高い S 期集積が認められた。

2) cDNA アレー解析では新規、既知含めて 20 種類以上の腫瘍マーカーが得ることができた。現在抗体作製を行っている。

3) DACHPt 内包ミセルは、腫瘍内で比較的均一に分布していることが確認された。抗腫瘍効果評価では、オキサリプラチンは、有効性を示さなかったが、DACHPt 内包ミセルは、有意な制ガン活性を示すことが明らかとなった。また、DACHPt 内包ミセルの制ガン活性に関して、TGF- $\beta$  阻害剤の投与の有無による差異は認められなかった。

4) L-OHP TF-PEG リポソームと腫瘍組織血管内皮細胞に対する免疫療法を併用した群のマウスにおいては L-OHP TF-PEG リポソームを単独投与したマウスと比較して、有意な腫瘍増殖抑制効果の増強を示したのに対し、L-OHP 溶液に腫瘍組織血管内皮細胞に対する免疫療法を併用したマウスにおいては、免疫療法を併用した効果は認められなかった。

5) アミノ酸欠乏時にリソソーム酵素阻害剤の添加によりオートファゴソームに局在する LC3-II タンパク質の集積が観察された。またオートファジー阻害による細胞死の誘導は栄養飢餓状態でのみ認められ、通常栄養環境

での毒性は認められなかった。免疫染色による多数例の解析で早期の大腸癌から、癌細胞特異的な LC3 タンパク質の蓄積が認められた。

6) カビ培養液の活性成分を単離精製したところ、これまでに知られていない新規なペプチド化合物がみつかった。

グルコースが欠乏すると強い細胞毒性を示すことがわかった。グルコース濃度は 0.5% では細胞毒性を示さないが、0.1% だと強い細胞毒性を示すことがわかった。

#### D. 考察

SN-38 はその抗腫瘍効果は時間依存性であるので、高濃度の集積と長時間の腫瘍内停滞と徐放をもたらす NK012 は SN-38 のプロドラッグとして理想的と考える。40nm の DACHPt 内包ミセルは、膵ガンモデルに対する高い集積性と組織浸透性を示すものと思われる。以上より、DDS 製剤も抗がん剤や対象となるがんにより、その物理化学的性質を変える必要があると考える。オートファジーの活性化が栄養飢餓環境での大腸癌細胞の生存を助長し、それによって大腸癌の発生・進展を促進していることを強く示唆するものである。また栄養飢餓に陥りやすいがん組織・細胞に特異的な治療法として、オートファジー阻害の有用性を

示唆するものでもあった。

#### E. 結論

DDS 製剤は欧米でいくつか承認されてきており、現在日本発の DDS 製剤が日米欧で臨床開発に突入した。本研究で得られた知見が各臨床治験プロトコールに盛り込まれた。今後は臨床データを真摯に受止め、トランスレーショナルな観点からさらなる研究を展開すべきである。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. T, Hamaguchi., K, Kato., Y. Matsumura., et al., A Phase I and Pharmacokinetic Study of NK105, a Paclitaxel-incorporating Micellar Nanoparticle Formulation. Brit J Cancer., 97 : 170-176, 2007 .
2. Y. Matsumura., Preclinical and clinical studies of anticancer drug-incorporated polymeric micelles. J Drug Targeting., 15(7-8) : 507-517, 2007 .
3. K, Maekawa., Matsumura, Y., et al., Genetic variations and haplotype structures of the DPYD gene encoding dihydropyrimidine dehydrogenase in Japanese and their ethnic differences. J Hum Genet., 52 : 804-819, 2007.
4. T, Nakajima., Y. Matsumura., et al., Syneragistic antitumor activity of the novel SN-38 incorporating polymeric micelles, NK012, combined with 5-fluorouracil in a mouse model of colorectal cancer, as compared with that of irinotecan plus 5-fluorouracil. Int J Cancer. 122 : 2148-2153 ,2008.
5. S, Yajima., Y. Matsumura. et al., Expression profiling of fecal colonocytes for RNA-based screening of colorectal cancer. Int J Oncol. Nov;31(5):1029-37, 2007.
6. Y, Saito., Y. Matsumura., et al., Enhanced distribution of NK012 and prolonged sustained-release of SN-38 within tumors are the key strategic point for a hypovascular tumor. Can Science., 2008(in press).
7. M, Sumitomo., Y. Matsumura., et al., Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, strongly suppresses renal cancer progression. Cancer Res., 68 : 1631-1635, 2008.
8. S. Wu, S. Murai, K. Kataoka, M. Miyagishi, Yin Yang 1 induces Transcriptional Activity of p73 through Cooperation with E2F1. Biochem. Bioph. Res. Co. 365 (1) 75-81 2008
9. Y. Imai, E. Kaneko, T. Asano, M. Kumagai, M. Ai, A. Kawakami, K. Kataoka, K. Shimokado A novel

- contrast medium detects increased permeability of rat injured carotid arteries in magnetic resonance T2 mapping imaging. *J Athero. Throm.* 14 (2) 65-71, 2007.
10. S. Hiki, K. Kataoka. A Facile Synthesis of Azido-Terminated Heterobifunctional Poly(ethylene glycol)s for "Click" Conjugation. *Bioconjugate Chem.* 18 (6) 2191-2196, 2007.
  11. K. Masago, K. Itaka, N. Nishiyama, U. Chung, K. Kataoka. Gene delivery with biocompatible cationic polymer: Pharmacogenomic analysis on cell bioactivity. *Biomaterials* 28 (34) 5169-5175, 2007.
  12. A. Kawamura, A. Harada, K. Kono, K. Kataoka. Self-Assembled Nano-Bioreactor from Block Ionomers with Elevated and Stabilized Enzymatic Function. *Bioconjugate Chem.* 18 (5) 1555-1559, 2007.
  13. M. Nakanishi, J. -S. Park, W. -D. Jang, M. Oba, K. Kataoka Study of the quantitative aminolysis reaction of poly(beta-benzyl L-aspartate) (PBLA) as a platform polymer for functionality materials. *React. Funct. Polym.* 67 (11) 1361-1372, 2007.
  14. M. Oishi, Y. Nagasaki, N. Nishiyama, K. Itaka, M. Takagi, A. Shimamoto, Y. Furuichi, K. Kataoka Enhanced Growth Inhibition of Hepatic Multicellular Tumor Spheroids by Lactosylated Poly(ethylene glycol)-siRNA Conjugate Formulated in PEGylated Polyplexes. *ChemMedChem.* 2 (9) 1290-1297, 2007.
  15. K. Miyata, S. Fukushima, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, K. Kataoka. PEG-based block cationers possessing DNA anchoring and endosomal escaping functions to form polyplex micelles with improved stability and high transfection efficacy. *J. Control. Release.* 122 (3); 252-260, 2007.
  16. M. Oba, S. Fukushima, N. Kanayama, K. Aoyagi, N. Nishiyama, H. Koyama, K. Kataoka. Cyclic RGD peptide-conjugated polyplex micelles as a targetable gene delivery system directed to cells , possessing alphavbeta3 and alphavbeta5 integrins. *Bioconjugate Chem.* 18 (5); 1415-1423, 2007.
  17. H. Cabral, N. Nishiyama, K. Kataoka. Optimization of (1,2-diamino-cyclohexane)platinum(II)-loaded polymeric micelles directed to improved tumor targeting and enhanced antitumor activity. *J. Control. Release.* 121 (3) 146-155,

- 2007
18. M. Han, Y. Bae, N. Nishiyama, K. Miyata, M. Oba, K. Kataoka. Transfection study using multicellular tumor spheroids for screening non-viral polymeric gene vectors with low cytotoxicity and high transfection efficiencies. *J. Control. Release.* 121 (1-2) 38-48, 2007.
  19. Y. Bae, N. Nishiyama, K. Kataoka. In vivo antitumor activity of the folate-conjugated pH-Sensitive polymeric micelle selectively releasing adriamycin in the intracellular acidic compartments. *Bioconjugate Chem.* 18(4),1131-1139;2007.
  20. T. Satomi, Y. Nagasaki, H. Kobayashi, H. Otsuka, K. Kataoka, Density Control of Poly(ethylene glycol)Layer To Regulate Cellular Attachment. *Langmuir* 23(12) 6698-6703, 2007.
  21. D. Akagi, M. Oba, H. Koyama, N. Nishiyama, S. Fukushima, T. Miyata, H. Nagawa, K. Kataoka. Biocompatible micellar nanovectors achieve efficient gene transfer to vascular lesions without cytotoxicity and thrombus formation. *Gene Ther.* 14 (13) 1029-1038, 2007.
  22. Y. Lee, S. Fukushima, Y. Bae, S. Hiki, T. Ishii, K. Kataoka. A protein nanocarrier from charge-conversion polymer in response to endosomal pH. *J. Am. Chem. Soc.* 129(17); 5362-5363, 2007.
  23. M. R. Kano, Y. Bae, C. Iwata, Y. Morishita, M. Yashiro, M. Oka, T. Fujii, A. Komuro, K. Kiyono, M. Kamiishi, K. Hirakawa, Y. Ouchi, N. Nishiyama, K. Kataoka, K. Miyazono. Improvement of cancer-targeting therapy, using nanocarriers for intractable solid tumors by inhibition of TGF-beta signaling. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* 104 (9); 3460-3465, 2007.
  24. Ryo Suzuki, Tomoko Takizawa, Yasuhiro Kuwata, Mahito Mutoh, Nobuyuki Ishiguro, Naoki Utoguchi, Atsuko Shinohara, Masazumi Eriguchi, Hirinobu Yanagie, Kazuo Maruyama. Effective anti-tumor activity of oxaliplatin encapsulated in transferrin-PEG-liposome; *Int. J. Pharm.* 346; 143-150, 2008.
  25. K Sato, K Tsuchihara, T Ueno, et al. Autophagy is activated in colorectal cancer cells and contributes to the tolerance to nutrient deprivation. *Cancer Res.* 67;9677-9684,2007.
  26. Momose, I., Iijima, M., Kawada, M., Ikeda, D. A new proteasome inhibitor,



TP-110, induces apoptosis in human prostate cancer PC-3 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71; 1036-1043, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告書

新戦略に基づく抗がん剤の開発に関する研究

分担研究者 松村 保広

国立がんセンター東病院 臨床開発センター がん治療開発部

敵（がん）との戦いにおいて、收容所（ペトリ皿）に敵を集め弾丸（抗腫瘍剤）で殺すことは容易である、しかしながら、実際のがんとの戦いにおいては、敵は幾多の防御壁を築いており、どこにひそんでいるかさえわからない。現在のがん治療は弾丸を無差別に撃ちまくっているような状況である。そこで、鉄砲をもった兵隊を適地（がん組織）におくりこみ攻撃するというドラッグデリバリーシステム（DDS）の戦略が必要となる。本研究では腫瘍の脈管と間質の特性に立脚した DDS の基礎、臨床、トランスレーショナル研究を行った。

#### A. 研究目的

DDS 製剤のシスプラチン内包ミセル、NC-6004 およびタキソール内包ミセル、NK105 および SN-38 内包ミセル、NK012 の非臨床モデルにおける薬効、併用効果につき臨床試験へ反映するといった DDS 製剤のトランスレーショナル研究を行った。また第2世代の DDS 製剤の作成のためそのパイロット分子としてのがん特異抗体の作製を行った。

#### B. 研究方法

1) 膵がんという hypovascular な腫瘍モデルにおける DDS 製剤のありかたについて、NK012 を使ってあきらかにする。ヒト膵がんのヌードマウス移植皮下腫瘍はヒト膵がんとは異なり hypervascular である。Panc 1、PSN 1、

BxPC 3、Capan 1 の4種の膵がん株の皮下腫瘍における腫瘍血管と間質の関係をあきらかにする。それぞれの皮下腫瘍における NK012 の PK、PD を CPT-11 と比較検討する。

2) 腎がんに対する NK012 の薬効試験を行う。特に、Renca 腎がん細胞においては、肺転移モデルにおける NK012 と CPT-11 との比較検討を行う

3) 大腸がん皮下移植腫瘍に対する 5-FU/NK012 と 5-FU/CPT-11 の抗腫瘍効果を比較検討する。

4) がん関連抗体の作製のため健常人ヒト大腸剥離上皮細胞と大腸がん細胞株との間で cDNA アレーを行い、その後がんで発現が高かった分子につき in situ hybridization を行った。

#### C. 研究結果

1) 膵がん皮下腫瘍4種につき比較し

たところ、腫瘍血管が最も多かったのは PSN1 で、最も少なかったのは Capan1 であった。コラーゲンなど間質に関しては逆に Capan1 が最も多く、PSN1 はもっとも少ない結果であった。以上より Capan1 がヒト膵がんの形態に最も近いと判断した。抗腫瘍効果では NK012 が Capan1 においても PSN1 においてもすべての腫瘍が消失したのに対し、CPT-11 では単なる増殖抑制効果のみであった。HPLC および蛍光イメージングによる腫瘍内分布の解析では、CPT-11 は腫瘍内濃度のピークが投与後 1 時間でピークになり 6 時間では腫瘍内から完全に消失したのに対し、NK012 は 24 時間後がピークで 3 日以上高濃度を保っていた。

2) 腎がんに対する抗腫瘍効果に関しては、VEGF 産生腫瘍である Renca 腎がん細胞の肺転移モデルにおいて CPT-11 投与群で抗腫瘍効果は認められたものの生存率ではコントロールとの間で有意差は認めなかった。一方、NK012 投与群においては、著しい抗腫瘍効果のみでなく、生存においても有意差を認めた ( $p < 0.001$ )。

3) 大腸がん細胞株 HT-29 に対する皮下腫瘍における比較において CPT-11/5-FU はコントロールに比べ著しい抗腫瘍効果を認めたが、腫瘍は再増殖してきた。一方で NK012/5-FU 投与群ではすべての腫瘍の消失が得ら

れ再発も認められなかった。細胞周期解析において、NK012 が CPT-11 に比べて高い S 期集積が認められた。

4) cDNA アレー解析では新規、既知含めて 20 種類以上の腫瘍マーカーが得ることができた。このうち、2 種類の細胞表面蛋白がその後の *in situ* ハイブリダイゼーションにおいて、5 例のがんですべて陽性、5 例の正常ですべて陰性であり、現在抗体作製を行っている。

#### D. 考察

3 種類のがんで CPT-11 と NK012 との抗腫瘍効果を比較したが、いずれにおいても NK012 が著しく優位であった。以前の研究においても今回の研究においても VEGF 産生腫瘍に著効が認められたが、予想に反して、腫瘍血管が少ない膵がんにおいても NK012 が CPT-11 をあきらかに上回っていた。このことを薬理的に検討した。CPT-11 も NK012 も SN-38 のプロドラッグであるが、CPT-11 は低分子ゆえに投与後 1 時間で腫瘍内濃度がピークになるがその後すみやかに腫瘍内から消失していく。一方、NK012 は DDS 製剤であるがゆえに腫瘍内集積は緩やかであり、投与後 24 時間後にピークに達し、その後 96 時間後も腫瘍内にとどまっている。しかも NK012 内包の SN-38 は徐放され、内包されているものの 70%以上が 48 時間で放出される。

SN-38はその抗腫瘍効果は時間依存性であるので、高濃度の集積と長時間の腫瘍内停滞と徐放をもたらすNK012はSN-38のプロドラッグとして理想的と考える。

#### E. 結論

現在日米でNK012の臨床第1相治験が行われている。今後、本研究で得られた知見をもとに第2相および第3相臨床試験を計画すべきと考える。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. T, Hamaguchi., K, Kato., Y, Matsumura., et al., A Phase I and Pharmacokinetic Study of NK105, a Paclitaxel-incorporating Micellar Nanoparticle Formulation. Brit J Cancer., 97 : 170-176, 2007 .
2. Y, Matsumura., Preclinical and clinical studies of anticancer drug-incorporated polymeric micelles. J Drug Targeting., 15(7-8) : 507-517, 2007 .
3. K, Maekawa., Matsumura, Y., et al., Genetic variations and haplotype structures of the DPYD gene encoding dihydropyrimidine dehydrogenase in Japanese and their ethnic differences. J Hum Genet., 52 : 804-819, 2007.
4. T, Nakajima., Y, Matsumura., et al.,

Syneragistic antitumor activity of the novel SN-38 incorporating polymeric micelles, NK012, combined with 5-fluorouracil in a mouse model of colorectal cancer, as compared with that of irinotecan plus 5-fluorouracil. Int J Cancer. 122 : 2148-2153 ,2008.

5. S, Yajima., Y Matsumura. et al., Expression profiling of fecal colonocytes for RNA-based screening of colorectal cancer. Int J Oncol. Nov;31(5):1029-37, 2007.
6. Y, Saito., Y, Matsumura., et al., Enhanced distribution of NK012 and prolonged sustained-release of SN-38 within tumors are the key strategic point for a hypovascular tumor. Can Science., 2008(in press).
7. M, Sumitomo., Y, Matsumura., et al., Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, strongly suppresses renal cancer progression. Cancer Res., 122 : 2148-2153, 2008.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金  
第3次対がん総合戦略研究事業「新戦略に基づく抗がん剤の開発に関する研究」  
分担研究報告書

難治ガン治療のための高分子ミセル型ナノキャリアの開発

分担研究者 片岡 一則 東京大学大学院工学系研究科 教授

要旨：本研究では、難治ガンの標的治療を目的として、高分子ミセル型ナノキャリアの最適化と高機能化を目指している。本年度は、白金錯体制ガン剤である DACHPt を内包した高分子ミセルに関して、ヒト膵ガン細胞の皮下移植モデルならびにマウスメラノーマ細胞の肺転移モデルに対する治療効果を検討した。前者のモデルに対して、DACHPt 内包ミセルは、腫瘍の深部まで到達し、有意な制ガン活性を示すことが確認された。一方、後者のモデルに対しては、メラノーマ細胞の静脈内投与から薬剤投与のタイミングに関係なく、DACHPt 内包ミセルは、優れた制ガン活性を示すことが明らかとなった。

A. 研究目的

親水性高分子と疎水性高分子が連結されたブロック共重合体は、水中で自律的に会合し粒径数十ナノメートルの高分子ミセルを形成する。高分子ミセルは、内核に制ガン剤などの疎水性薬剤を内包させることができ、表面が生体適合性の PEG で覆われているために生体内で異物として認識されず血中を長期滞留することができる。さらに、高分子ミセルは、Enhanced Permeability and Retention (EPR)効果(腫瘍では血管壁の透過性の亢進と未発達なリンパ系の構築によって高分子物質が集積しやすい環境が形成されている効果)によって固形ガンに選択的に集積し、優れた制ガン活性を示すことが実証されている。このような高分子ミセル型 DDS は、これまでに制ガン剤アドリアマイシン、タキソール、シスプラチン、SN-38

を内包したシステムの臨床治験が国内外で実施されており、ガン標的治療において有望なキャリアであると考えられている。

そこで本研究では、高分子ミセルを構成するブロック共重合体の最適化と機能の創り込みによって、従来型ミセルと比較して高機能化された高分子ミセルを構築し、転移ガンなどの難治ガンの治療を実現することを目指している。本年度は、これまでに高い血中滞留性と腫瘍集積性が確認されている dichloro (1,2- diaminocyclohexane) platinum(II)(DACHPt)(オキサリプラチンの中間活性体)を内包した高分子ミセルに関して、ヒト膵ガン細胞の皮下移植モデルならびにマウスメラノーマ細胞の肺転移モデルに対する治療効果を検討した。

B. 研究方法

1) DACHPt 内包ミセルの調製

DACHPt 内包ミセルは、PEG-P(Glu) 12-20 (PEG の分子量 12,000; ポリグルタミン酸 [P(Glu)]重合度 20)と DACHPt を水中で 120 時間反応させることによって調製した。得られた DACHPt 内包ミセルは、限外ろ過によって精製し、動的光散乱測定を行ったところ、粒径 36nm の単分散な粒子であることが確認された。さらに、Pt の内包量を ICP-MS によって定量したところ、ミセル中に重量比で約 30%の Pt が内包されているこ

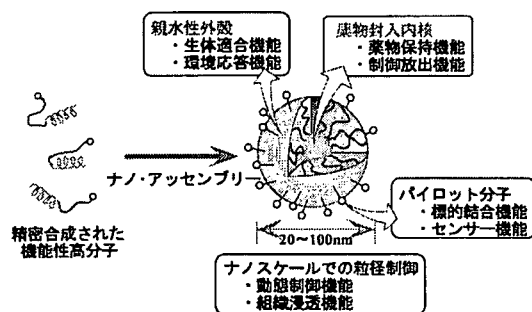


図 1. 高分子ミセル型 DDS の概念図

とが確認された。また、DACHPt 内包ミセルの組織分布を評価するために、本研究では、PEG-P(Glu)の末端に蛍光分子 Alexa 488 を導入することによって、蛍光標識された DACHPt 内包ミセルを調製した。Alexa 488 標識 DACHPt 内包ミセルは、Cl<sup>-</sup>存在下で配位子交換反応によって DACHPt を放出することによって、ミセル内の Alexa 488 の濃度消光が解消され、蛍光強度の増大を示すことが確認された。

2) ヒト膀胱がん BxPC3 細胞の皮下移植モデルに対する DACHPt 内包ミセルの治療効果

ヒト膀胱がん BxPC3 細胞を  $1 \times 10^7$  個を BALB/c ノードマウス(5-6 週齢、♀)の皮下に移植し、腫瘍体積が約 50-70mm<sup>3</sup> に達した後、DACHPt 内包ミセルを i.v. 投与した。腫瘍組織内での Alexa 488 標識 DACHPt 内包ミセルの局在を評価するために、4%パラホルムアルデヒドで固定化し、パラフィンに包埋後、10μm の厚さで組織切片を作成した。その後、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM) (LSM510, Carl Zeiss)によって観察することによって、ミセルの腫瘍組織内分布を評価した。さらに本実験では、これまでの研究において腫瘍血管に特異的に作用し、血管構造を一過的に破綻させることによって高分子物質の腫瘍への集積性を高めることが確認されている TGF-β 阻害剤(1mg/kg)を i.p. 投与し、その DACHPt 内包ミセルの腫瘍集積性に及ぼす効果を検討した。一方、BxPC3 細胞の皮下移植モデルに対する治療効果は、オキサリプラチンおよび DACHPt 内包ミセルを 1 日おきに 3 回投与した後の腫瘍体積の変化によって評価した(TGF-β 阻害剤との併用療法においては、1mg/kg の TGF-β 阻害剤を連日 5 回投与した)。

3) メラノーマ B16-F10-Luc 細胞の肺転移モデルに対する DACHPt 内包ミセルの治療効果

本実験では、転移ガンに対する DDS の治療効果を in vivo イメージングによって評価するために、ルシフェラーゼを発現するマウスメラノーマ B16-F10-Luc 細胞を i.v. 投与することによって、B16-F10-Luc 細胞の肺転移モデルを作成した。B16-F10-Luc 細胞は、ルシフェラーゼの in vivo イメージング装置

(IVIS)によって検出可能であり、Luc 発光の定量によってマウスを犠牲死させることなく、転移ガンに対する治療効果を評価することが可能になる。本実験では、B16-F10-Luc 細胞の i.v. 投与 3 日後からオキサリプラチンおよび DACHPt 内包ミセルを 1 日おきに 3 回投与し、転移ガンモデルに対する治療効果を評価した。

### C. 研究結果

1) BxPC3 細胞の皮下移植モデルに対する DACHPt 内包ミセルの治療効果

Alexa 488 標識 DACHPt 内包ミセルの i.v. 投与 24 時間後の腫瘍内分布を CLSM 観察によって評価した結果を図 2 に示す。その結果、DACHPt 内包ミセルは、腫瘍内で比較的均一に分布していることが確認された(図 2A)。一方、TGF-β 阻害剤を同時投与したところ、DACHPt 内包ミセルは、TGF-β 阻害剤を投与しなかった場合と同様に腫瘍内に分布するが、集積量については蛍光強度の若干の増大が見られ、TGF-β 阻害剤の

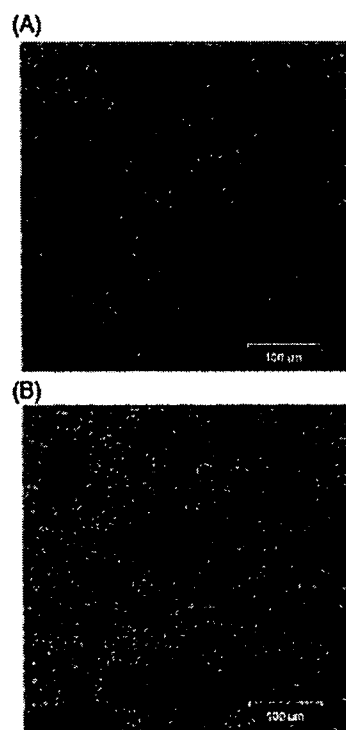


図2. Alexa 488標識DACHPt内包ミセルの腫瘍内分布 (BxPC3細胞) (A)TGF-β 阻害剤の投与なし (B) TGF-β 阻害剤の投与あり

投与による DACHPt 内包ミセルの集積性の増大が示唆された(図 2B)。

BxPC3 細胞の皮下移植モデルに対する DACHPt 内包ミセルの抗腫瘍効果を評価した結果を図 3 に示す。その結果、オキサリプラチンは、有効性を示さなかったが、DACHPt 内包ミセルは、3mg/kg, 5mg/kg のどちらの投与量においても有意な制ガン活性を示すことが明らかとなった(図 3A)。また、DACHPt 内包ミセルの制ガン活性に関して、TGF- $\beta$  阻害剤の投与の有無による差異は認められなかった(図 3B)。

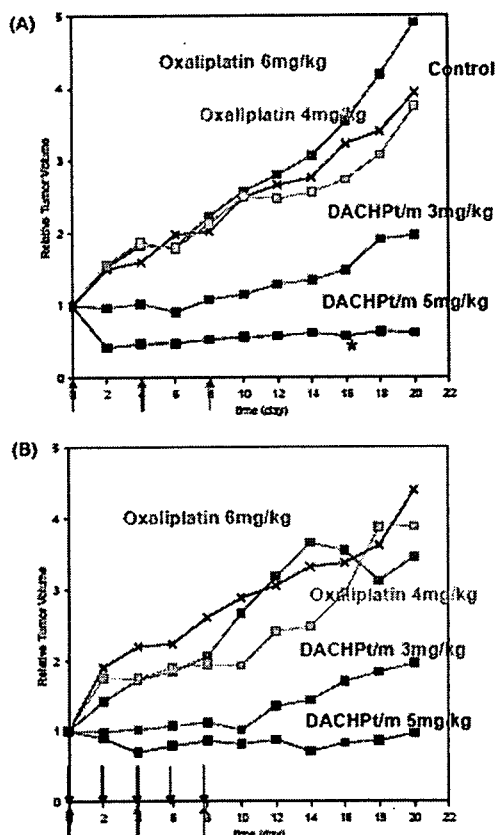


図3. BxPC3細胞の皮下移植モデルに対するDACHPt内包ミセルの制ガン活性 (A)TGF- $\beta$  阻害剤の投与なし (B) TGF- $\beta$  阻害剤の投与あり(赤の矢印)

## 2) B16-F10-Luc 細胞の肺転移モデルに対する DACHPt 内包ミセルの治療効果

本実験では、B16-F10-Luc 細胞からのルシフェラーゼ(Luc)発光量を IVIS によって定量することによって体内の微小転移ガンに対する薬剤の治療効果を評価することができる。B16-F10-Luc 細胞の i.v.投与3日後からオキサリプラチンおよびDACHPt内包ミセルを1日おきに3回投与した時の Luc 発光量を定量した結果を図 4(A)、治療開始から

10日後の IVIS による Luc イメージングの結果を図 4(B)に示す。その結果、オキサリプラチンと DACHPt 内包ミセルは共に無処置群と比較して Luc 発光の減少を示したが、その効果は DACHPt 内包ミセルにおいて顕著であった。このように、DACHPt 内包ミセルは、メラノーマの肺転移モデルに対しても顕著な制ガン活性を示すことが示唆された。

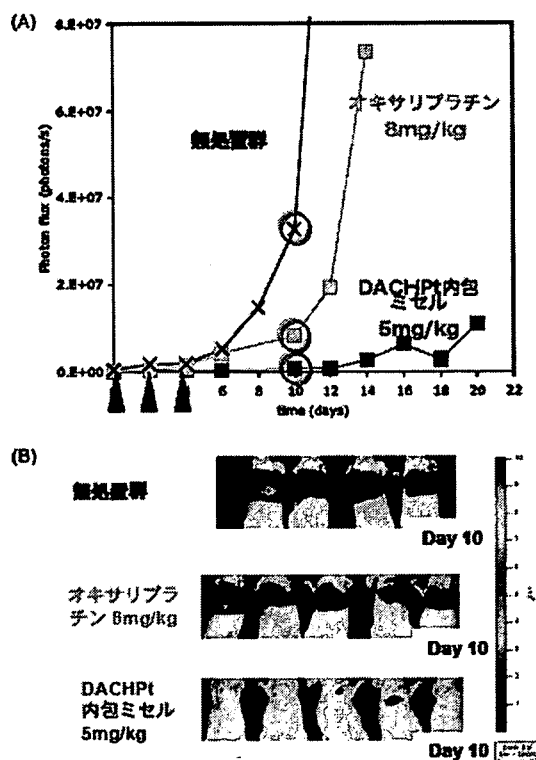


図4. B16-F10-Lucの肺転移モデルに対するオキサリプラチンおよびDACHPt内包ミセルの制ガン活性 (A) IVISによるLucの定量 (B) 治療10日後のLucイメージング画像

## D. 考察

本年度は、ヒト膵ガンの皮下移植モデルとメラノーマの肺転移モデルを用いて DACHPt内包ミセルの機能評価を行い、その標的ガン治療における有用性を明らかにすることができた。前者のヒト膵ガンBxPC3の皮下移植モデルは、実際の膵ガンと同様に血管密度が疎らであり、厚い間質で覆われているために、薬剤の集積性が著しく低下しており、それ故に難治性となっているものと考えられる。我々の過去の研究では、65nmのアドリアマイシン(ADR)内包ミセルは、BxPC3細胞の皮下移植モデルに対し

て集積性が低く、有意な抗腫瘍効果を示さなかったが、低用量のTGF- $\beta$ 阻害剤を併用することによって、腫瘍血管の構造破綻が惹起され、ADR内包ミセルの腫瘍集積性が向上し、顕著な制ガン活性を示すことが明らかとなった。このような過去の研究成果に対して、本年度は、40nmのDACHPt内包ミセルが、TGF- $\beta$ 阻害剤の併用によるガン集積性の向上を示すものの、TGF- $\beta$ 阻害剤を投与しない条件においても腫瘍の深部にまで到達でき、顕著な制ガン活性を示すことが確認された。すなわち、40nmのDACHPt内包ミセルは、65nmのADR内包ミセルと比較して、腫ガンモデルに対する高い集積性と組織浸透性を示すものと思われる。これまでに、100nm以下のナノ粒子のサイズと腫瘍集積性および組織浸透性の関連性については、ほとんど知られておらず、本研究成果はナノDDSによる難治ガンの標的治療において極めて重要な知見であると考えられる。

後者のメラノーマの肺転移モデルに関しては、Luc発現細胞を利用することによって転移ガンに対するDACHPt内包ミセルの治療効果を明らかにすることができた。ステルス性キャリアの転移ガンに対する治療効果に関する報告は稀であり、本研究成果はDDSの転移ガン治療における有用性を示唆する極めて重要なものであるものと思われる。今後は、ガン細胞の移植と薬剤の投与のタイミングを検討することによってDACHPt内包ミセルの治療効果を確実なものとする一方で、転移巣の形成過程とDDSの集積性について組織学的な検討を行うことでその作用メカニズムを明らかにしていきたいと考えている。

#### E. 結論

本年度は、DACHPt内包ミセルに関してヒト腫ガンの皮下移植モデルとメラノーマの肺転移モデルを用いてDDSの機能評価を行い、DACHPt内包ミセルの標的ガン治療における有用性を明らかにすることができた。今後は、DACHPt内包ミセルの作用メカニズムについて詳細な検討を行う一方で、リガンド分子の結合などのさらなる機能化を推

進していきたいと考えている。

#### F. 健康危険情報

本研究では現在のところ健康に危険を及ぼす可能性はない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(欧文)

1. S. Wu, S. Murai, K. Kataoka, M. Miyagishi, Yin Yang 1 induces Transcriptional Activity of p73 through Cooperation with E2F1. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 365 (1) 75-81 (2008)
2. Y. Imai, E. Kaneko, T. Asano, M. Kumagai, M. Ai, A. Kawakami, K. Kataoka, K. Shimokado, A novel contrast medium detects increased permeability of rat injured carotid arteries in magnetic resonance T2 mapping imaging. *J Athero. Throm.* 14 (2) 65-71 (2007)
3. S. Hiki, K. Kataoka, A Facile Synthesis of Azido-Terminated Heterobifunctional Poly(ethylene glycol)s for "Click" Conjugation. *Bioconjugate. Chem.* 18 (6) 2191-2196 (2007)
4. K. Masago, K. Itaka, N. Nishiyama, U. Chung, K. Kataoka, Gene delivery with biocompatible cationic polymer:Pharmacogenomic analysis on cell bioactivity. *Biomaterials* 28 (34) 5169-5175 (2007)
5. A. Kawamura, A. Harada, K. Kono, K. Kataoka, Self-Assembled Nano-Bioreactor from Block Ionomers with Elevated and Stabilized Enzymatic Function. *Bioconjugate Chem.* 18 (5) 1555-1559 (2007)
6. M. Nakanishi, J. -S. Park, W. -D. Jang, M. Oba, K. Kataoka, Study of the quantitative aminolysis reaction of poly(beta-benzyl L-aspartate) (PBLA) as a platform polymer for functionality materials. *React. Funct. Polym.* 67 (11) 1361-1372 (2007)
7. M. Oishi, Y. Nagasaki, N. Nishiyama, K. Itaka, M. Takagi, A. Shimamoto, Y. Furuichi, K. Kataoka, Enhanced Growth



- Inhibition of Hepatic Multicellular Tumor Spheroids by Lactosylated Poly(ethylene glycol)-siRNA Conjugate Formulated in PEGylated Polyplexes. *ChemMedChem* 2 (9) 1290-1297 (2007)
8. K. Miyata, S. Fukushima, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, PEG-based block cationomers possessing DNA anchoring and endosomal escaping functions to form polyplex micelles with improved stability and high transfection efficacy. *J. Control. Release* 122 (3) 252-260 (2007)
  9. M. Oba, S. Fukushima, N. Kanayama, K. Aoyagi, N. Nishiyama, H. Koyama, K. Kataoka, Cyclic RGD peptide-conjugated polyplex micelles as a targetable gene delivery system directed to cells possessing  $\alpha v \beta 3$  and  $\alpha v \beta 5$  integrins. *Bioconjugate Chem.* 18 (5) 1415-1423 (2007)
  10. H. Cabral, N. Nishiyama, K. Kataoka, Optimization of (1,2-diamino-cyclohexane)platinum(II)-loaded polymeric micelles directed to improved tumor targeting and enhanced antitumor activity. *J. Control. Release* 121 (3) 146-155 (2007)
  11. M. Han, Y. Bae, N. Nishiyama, K. Miyata, M. Oba, K. Kataoka, Transfection Study Using Multicellular Tumor Spheroids for Screening Non-viral Polymeric Gene Vectors with Low Cytotoxicity and High Transfection Efficiencies. *J. Control. Release* 121 (1-2) 38-48 (2007)
  12. Y. Bae, N. Nishiyama, K. Kataoka, In Vivo Antitumor Activity of the Folate-Conjugated pH-Sensitive Polymeric Micelle Selectively Releasing Adriamycin in the Intracellular Acidic Compartments. *Bioconjugate Chem.* 18(4) 1131-1139 (2007)
  13. T. Satomi, Y. Nagasaki, H. Kobayashi, H. Otsuka, K. Kataoka, Density Control of Poly(ethylene glycol) Layer To Regulate Cellular Attachment. *Langmuir* 23(12) 6698-6703 (2007)
  14. D. Akagi, M. Oba, H. Koyama, N. Nishiyama, S. Fukushima, T. Miyata, H. Nagawa, K. Kataoka, Biocompatible micellar nanovectors achieve efficient gene transfer to vascular lesions without cytotoxicity and thrombus formation. *Gene Ther.* 14 (13) 1029-1038 (2007)
  15. Y. Lee, S. Fukushima, Y. Bae, S. Hiki, T. Ishii, K. Kataoka, A Protein Nanocarrier from Charge-Conversion Polymer in Response to Endosomal pH. *J. Am. Chem. Soc.* 129 (17) 5362-5363 (2007)
  16. M. R. Kano, Y. Bae, C. Iwata, Y. Morishita, M. Yashiro, M. Oka, T. Fujii, A. Komuro, K. Kiyono, M. Kamiishi, K. Hirakawa, Y. Ouchi, N. Nishiyama, K. Kataoka, K. Miyazono, Improvement of cancer-targeting therapy, using nanocarriers for intractable solid tumors by inhibition of TGF- $\beta$  signaling. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* 104 (9) 3460-3465 (2007)
- (和文) なし
2. 総説  
(欧文)
  1. N. Nishiyama, W. -D. Jang, K. Kataoka, Supramolecular nanocarriers integrated with dendrimers encapsulating photosensitizers for effective photodynamic therapy and photochemical gene delivery. *New J. Chem.* 31 1074-1082 (2007)
- (和文)
1. 西山伸宏、片岡一則：人工ウイルスの実現に向けた高分子ミセル型ベクターの設計、*細胞工学* 27 (1) 56-61 (2008)
  2. 西山伸宏、片岡一則：ドラッグデリバリーシステム(DDS)と血管、*血管医学* 8 (3) 313-317 (2007)
  3. 西山伸宏、片岡一則：先端医療のためのインテリジェント型高分子ミセルの設計、*高分子* 56 (9) 736-739 (2007)
  4. 西山伸宏、片岡一則：デンドリマー光増感剤を利用した部位選択的遺伝子導入、*レーザー研究* 35 (7) 441-444 (2007)
  5. 西山伸宏、片岡一則：分子標的治療薬とDDSの融合とその可能性、*ゲノム医学* 7 (2) 59 (135)-62(138) (2007)
  6. 西山伸宏、片岡一則：高分子ミセルを利用したがん標的治療、*Mebio*

- Oncology, 松村保広編、メジカルレビュー社 東京 (2007) 18-26
7. 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・治療のための高分子ミセル型ナノキャリア設計 -、Therapeutic Research 28 (3) (2007)
  8. 岸村顕広、片岡一則：効率的なDDSを実現する超機能化高分子ナノデバイス、化学 62(7) 28-33 (2007)
  9. 片岡一則：DDSから人工細胞へ、再生医療 6 (2) 15 (2007)
  10. 位高啓史、片岡一則：高分子ナノキャリアを用いた遺伝子導入と再生医療への応用、再生医療 6 (2) 174-179 (2007)
  11. 位高啓史、片岡一則：ナノミセルによる生体適合性遺伝子・核酸デリバリーシステム、Drug Delivery System 22 (2) 168-169 (2007)
  12. 西山伸宏、鄭雄一、片岡一則：循環器疾患の治療のためのナノ DDS、呼吸と循環 55(3) 317-324 (2007)
3. 学会発表
1. 片岡一則，ナノバイオテクノロジーが拓く未来医療 -超分子ナノデバイスによるセルセラピー-，第27回日本医学会総会，大阪国際会議場，大阪，2007.4.8，基調講演
  2. 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4回「東京大学の生命科学」シンポジウム，安田講堂，東京大学，2007.4.14
  3. K. Kataoka，Light-induced Gene and Drug Delivery by Supramolecular Nanocarrier, 3rd Pharmaceutical Sciences World Congress(PSWC2007), Amsterdam RAI, The Netherlands, 2007.4.24, 基調講演
  4. 片岡一則，遺伝子デリバリーのための超分子ナノデバイス設計，第23回日本DDS学会，ホテル日航熊本，熊本，2007.6.15
  5. K. Kataoka，Engineered Supramacromolecular Assemblies as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, Ratner Symp: workshop on Polymers in Medicine and Biology, the Sonoma Valley (Hilton Hotel, Santa Rosa, CA), 2007.6.19, 2007.6.15
  6. 片岡一則，Polymeric-micellar nano-device for smart gene vector, 第13回日本遺伝子治療学会，愛知県がんセンター国際医学交流センター，愛知，2007.6.28, 招待講演
  7. K. Kataoka，Smart polymeric micelles as nanocarriers for gene and drug delivery, International Conference on Materials for Advanced Technologies 2007 (ICMAT2007), Singapore, SuntecSingapore International Convension and Exhibition Center, 2007.7.2, 基調講演
  8. 片岡一則，Light-induced gene and drug delivery by supramolecular nanocarrier, Keio International Symposium on "Photonics and Molecular Therapy", 慶応義塾大学医学部（信濃町），東京，2007.8.6, 招待講演
  9. K. Kataoka，Multimolecular- Assembly of Smart Block Copolymers as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, GelSympo2007, 東京大学, 2007.8.7
  10. K. Kataoka，Engineered supramacromolecular assemblies as nanocarriers for gene and drug delivery, The 3rd SBE International Conference on Bioengineering and Nanotechnology (ICBN 2007), Biopolis, Singapore, 2007.8.13, 招待講演
  11. K. Kataoka，Nanocarriers for Gene and Drug Delivery Advances in Tissue Engineering 2007, 15th Annual Short Course, in Duncan Hall, Rice University, Houston, Texas, 2007.8.18
  12. K. Kataoka，Supramolecular nanocarriers assembled from block copolymers for gene and drug delivery, Polypeptide and Protein Materials, the 234th ACS National Meeting, Westin Boston Waterfront, Boston, 2007.8.21, 招待講演
  13. 片岡一則，Supra-molecular nanodevices for gene and drug delivery ~Challenge to smart molecular therapy~The 2nd International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis, 早稲田大学国際会議場井深大記念ホール，東京，2007.9.7, 招待講演
  14. 片岡一則，ナノマテリアルによるドラッグデリバリー特別講演会，国立医薬

- 品食品衛生研究所, 東京, 2007.9.12, 招待講演
15. 片岡一則, ナノバイオ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—, 第11回 Molecular Cardiovascular Conference, 小樽キコロ, 北海道, 2007.9.14, 基調講演
  16. 片岡一則, 薬物・遺伝子デリバリーと高分子ゲル-ナノバイオインターフェイスに挑む-, ゲルワークショップ イン 名古屋, KKR ホテル名古屋, 愛知, 2007.9.22, 基調講演
  17. 片岡一則, ナノ構造デバイスによる標的治療, 第66回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜, 神奈川, 2007.10.4
  18. 片岡一則, 高分子ミセル型制がん剤の技術開発と臨床展開, 第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会(合同総会), パシフィコ横浜, 神奈川, 2007.10.11
  19. 片岡一則, 超分子ナノデバイスによるDDS イノベーション, NEDO 公開シンポジウム「ダブルターゲットング DDS-次世代 DDS 型治療システム-, 東京女子医大弥生記念講堂, 東京, 2007.10.13
  20. 片岡一則, ナノバイオテクノロジーが拓く未来医療, 第7回次世代医療システム産業化フォーラム, 大阪商工会議所 7 階 国際会議ホール, 大阪, 2007.10.15
  21. K. Kataoka, Supramolecular assemblies of smart block copolymers for nanomedicine, Xiangshan Science Conference on Functional Supramolecular Systems: Self-assembly and Nanotechnology 2007, FRAGRANT HILL HOTEL in Beijing, 2007.10.22, 招待講演
  22. 片岡一則, 高分子が先導するナノバイオテクノロジー: 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, 若手社員のための高分子基礎講座, 横浜ゴム湘南セミナーハウス, 神奈川, 2007.10.25
  23. 片岡一則, ナノバイオテクノロジーが拓く未来医療, 第48回日本脈管学会総会, 松本ホテルブエナビスタ, 長野, 2007.10.26, 教育講演
  24. 片岡一則, Novel Supramolecular Nanovector for Non-viral Gene Therapy, 第4回21世紀 COE 国際シンポジウム, ヒルトン名古屋, 愛知, 2007.10.26
  25. 片岡一則, ナノバイオマテリアルが拓く未来医療, 本多記念会創立 50 周年記念事業, 学士会館(神田錦町), 東京, 2007.11.16, 一般講演
  26. 片岡一則, ナノバイオテクノロジーと高分子の融合による未来医療の開拓, 第25回医用高分子研究会講座, 山上会館大会議室, 東京大学, 2007.11.19
  27. 片岡一則, ナノバイオ・インテグレーションが拓く未来医療, 第8回ナノ工学セミナー 京都大学桂キャンパス, ローム記念館大ホール, 2007.11.21, 特別講演
  28. 片岡一則, Supra-Molecular Nanodevices for Gene and Drug Delivery: Challenge to Smart Molecular Therapy, 台湾工業技術研究院との共同シンポジウム, 鉄門記念講堂, 東京大学, 2007.11.27
  29. 片岡一則, ナノバイオ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-, 第49回下野整形懇談会, 宇都宮市東日本ホテル, 栃木, 2007.11.28
  30. 片岡一則, ナノメディシンが拓く未来医療: ピンポイント診断・治療の実現を目指して, 第133回日本医学会シンポジウム, 日本医師会館大講堂, 東京, 2007.12.6
  31. 片岡一則, バイオマテリアルが先導する未来医療—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—, 東大-関学シンポジウム, 武田先端知ホール, 東京大学, 2007.12.10, 基調講演
  32. 片岡一則, 高分子ミセル型超分子ナノデバイスによる薬物・遺伝子デリバリー, 第6回遺伝子治療シンポジウム, 千里阪急ホテル, 大阪, 2008.2.1
- H. 知的所有権の出願・取得状況
1. 片岡一則, ジャン ミンゼン、石井篤史、西山伸宏、松本悟: ポリエチレングリコールの結合した核酸のコンジュゲートとリン酸カルシウムの有機-無機ハイブリッド型ナノ粒子、特願

2007-280803

2. 片岡一則、熊谷康顕、狩野光伸、関野正樹、松浦哲也、西山伸宏、宮園浩平：腫瘍撮像用 MRI 造影剤、特願 2007-124908
3. 片岡一則、原島秀吉、小暮健太郎、箕浦ありさ、ブロック共重合体ミセルの脂質被膜技術、特願 2007-085626