

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20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松村 保広

平成21(2009)年 3月

1/2冊

## 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 ..... 10  
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 ..... 14  
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 ..... 21  
丸山 一雄
4. 栄養飢餓耐性機構の治療応用 ..... 26  
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 ..... 29  
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 ..... 33  
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

研究代表者 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、収容所（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。本年度は新しい DDS の創生に加え、上記のような自然耐性にあるがんに対して DDS の剤型がどうあるべきか検討した。

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

DDS 製剤の薬効、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ているが、本年度は特に NK012 の胃がんおよび脳腫瘍同所移植系での評価を報告する。また、新規見せる製剤として、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、1)がん細胞パネルを用いた薬効試験、2)ヒト大腸がん HT29 細胞のオ

キサリ耐性株に対する薬効試験を目的とする。リボソームに関しては、新規免疫療法への DDS の参画をめざす。すなわち、ペプチドワクチンは単一抗原エピトープのみに対する CTL しか誘導できない欠点があった。そのため、様々な抗原エピトープに対する CTL を誘導するためがん関連抗原をそのまま DC の細胞質内に送達する技術の開発が切望されている。そこで本研究では、新規抗原導入方法としてバブルリボソームと超音波の併用による抗原デリバリーの有用性を評価を目的とする。

栄養飢餓耐性の研究に関しては、低栄養環境が既存の抗がん剤の効果に及ぼす影響について、in vitro で検討する。また、栄養飢餓状態の細胞に選択的に毒性を示す化合物を探索することを目的とした。

## B. 研究方法

1) 胃がんおよび脳腫瘍の同所移移植モデルを確立し、SN-38 内包ミセル NK012 の薬効と腫瘍内分布を検討した。

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) バブルリポソームと超音波の併用により抗原を送達した樹状細胞 (DC) の免疫による抗腫瘍効果を検討した。

5) グルコース無しの培地におけるゲミシタピンの殺細胞効果、DNA への取り込み、カスパーゼ活性を検討した。

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) NK012 群で著明な抗腫瘍効果を確認したのに対し、CPT-11 ではコントロー

ルに比べて、ほとんど抗腫瘍効果を認めなかった。生存においても移植後 150 日の NK012 投与群の生存率が 80% に対し、CPT-11 群では 0% であった。腫瘍内 SN-38 濃度は CPT-11 投与においては 1 時間値においては高濃度であるが、6 時間で検出限界以下になるのに対し、NK012 投与においては 3 日後も検出可能であった。

脳腫瘍モデルにおいても胃がんと同じような結果であり、NK012 は血液脳腫瘍関門を効率よく通過することが示された。

2) cDNA アレー解析では新規、既知含めて 10 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) H29 腫瘍においては、オキサリプラチンと DACHPt 内包ミセルは共に有意な制がん活性を示し、DACHPt 内包ミセルはオキサリプラチンよりも有意に高い制がん活性を有することが確認された ( $P < 0.005$ )。一方、HT29/ox においては、オキサリプラチンは有意な制がん活性を示さなかったが ( $P > 0.1$ )、DACHPt 内包ミセルはコントロール、オキサリプラチンよりも有意に高い制がん活性を示すことが明らかとなった ( $P < 0.001$ )。

4) バブルリポソームと超音波の併用により抗原送達した DC を免疫する



ことで、がん細胞の完全拒絶が確認された。これは、バブルリポソームと超音波の併用により抗原送達した DC の免疫により、がん細胞特異的な抗腫瘍免疫が活性化されたためであると考えられた。

5) 明らかな細胞毒性の軽減にも関わらず、無グルコース・低酸素条件下での細胞 1 個あたりの細胞内、ゲノム DNA 内へのゲムシタピンの取り込みは、通常培養条件下と比較して減少していなかった。通常培養条件下では、カスパーゼ 3 活性はゲムシタピン添加により上昇していた。一方、無グルコース・低酸素条件下では、過剰量のゲムシタピンを添加してもカスパーゼ 3 の活性上昇は認められなかった。

6) 数千の微生物培養液より栄養飢餓選択的細胞毒物質のスクリーニングを行ったところ、あるカビの固体培養物の抽出液に強い栄養飢餓選択的細胞毒性が認められた。既知低分子化合物である Efrapentin F であることが分かった。本化合物は、栄養培地 DMEM (10% FBS) に較べて栄養飢餓培地 NDM (10% D-FBS) で 100 倍強い細胞毒性を示した。この栄養飢餓選択的細胞毒性に影響を与える培地成分を調べたところ、アミノ酸や血清の欠乏では細胞毒性を示さないが、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。Efrapentin F を 62.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、週に 2 回静脈内投与することにより、有意ではないが、若干の腫瘍増殖抑制効果を認めた。

#### D. 考察

NK012 のように、選択的腫瘍集積性が高く、また、長時間徐放的にミセル内の低分子抗がん剤をリリースし、腫瘍内全体に長時間 SN-38 の分布を維持する DDS 製剤は抗腫瘍メカニズムの理にかなっていると考ええる。また、現在我々が作成中の抗体とハイブリッドすることにより、さらなる抗腫瘍効果のパワーアップをはかる予定である。

DACHPt 内包ミセルはエンドサイトーシスによって取り込まれた後、リソソームから活性型 DACHPt を放出することによって、高い細胞毒性を示すことができるものと考えている。

バブルリポソームと超音波の併用ががん免疫療法における有用な抗原送達システムになることが示唆された。

栄養飢餓選択的細胞毒性を示す化合物を新たに見出した。これらの解析を行った結果、ミトコンドリアの呼吸鎖を阻害する化合物は栄養飢餓選択的細胞毒性を示すことがわかった。ミトコンドリア呼吸鎖の機能は正常細胞の生存にとっても重要な部分であ

り、このような機能をもつ薬物が抗がん剤となりうるかどうかは、今後慎重に見極める必要がある。

#### 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。栄養飢餓選択的細胞毒性を示す化合物は、ミトコンドリア呼吸鎖阻害作用を有することから、今後、慎重にがん治療への可能性を見極めるべきである。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. J Kuroda, J Kuratsu, M Yasunaga, Y Koga, Y Matsumura. Potent antitumor effect of SN-38-incorporating polymeric micelle, NK012, against malignant glioma. *Int J Cancer*. 124;2505-2511,2009.
2. Y Matsumura. Poly (amino acid) micelle nanocarriers in preclinical and clinical studies. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (eds. VHL Lee, MK Forrest, and GS Kwon) Elsevier B.V. V.60/8 pp. 899-914, 2008
3. Y Matsumura. Polymeric micellar delivery systems in Oncology. *Jpn J Clin Oncol*. 38(12):793-802, 2008.
4. Nakajima-Eguchi T, Yanagihara K, Takigahara M, Yasunaga M, Kato K, Hamaguchi T, Yasuhide Yamada, Yasuhiro Shimada, Keichiro Mihara, Takahiro Ochiya, Yasuhiro Matsumura. Antitumor effect of SN-38-releasing polymeric micelles, NK012, on spontaneous peritoneal metastases from orthotopic gastric cancer in mice compared with irinotecan. *Cancer Res*. 68(22):9318-9322,2008.
5. M Sumitomo, F Koizumi, T Asano, A Horiguchi, K Ito, T Asano, T Kakizoe, M Hayakawa, Y Matsumura. Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, strongly suppress renal cancer progression. *Cancer Res*. 68(6):1631-1635, 2008.
6. T Nakajima, M Yasunaga, Y kano, F Koizumi, K Kato, T Hamaguchi, Y Yamada, K Shirao, Y Shimada, Y Matsumura. Synergistic 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.
7. Y Saito, M Yasunaga, J Kuroda, Y Koga, Y Matsumura. Enhanced distribution of NK012 and prolonged sustained-release of SN-38 within tumors are the key strategic point for a hypovascular tumor. *Cancer Sci*, 99; 6, 1258-1264, 2008.
  8. K Sai, Y Saito, M Itoda, H Fukushima-Uesaka, T Nishimaki-Mogami, S Ozawa, K Maekawa, k Kurose, N Kaniwa, M Kawamoto, Naoyuki Kamatani, K Shirao, T Hamaguchi, N Yamamoto, H Kunitoh, Y Ohe, Y Yamada, T Tamura, T Yoshida, H Minimai, Y Matsumura, A Ohtsu, N Saijo, J Sawada. Genetic Variations and Haplotypes of ABCC2 encoding MRP2 in a Japanese population. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 23(2): 139-147, 2008.
  9. R Suzuki, T Takizawa, Y Negishi, N Utoguchi, K Sawamura, K Tanaka, E Namai, Y Oda, Y Matsumura, K Maruyama. Tumor specific ultrasound enhanced gene transfer in vivo with novel liposomal bubbles. *Journal of controlled release*. 125: 137-144, 2008.
  10. Low-intensity ultrasound and microbubbles enhance the antitumor effect of cisplatin. Y Watanabe, A Aoi, S Horie, N Tomita, S Mor, H Morikawa, Y Matsumura, G Vassaux, T Kodama. *Cancer Sci.* 99(12): 2525-2531, 2008.
  11. Antitumor activity of NK012 combined with cisplatin against small-cell lung cancer and intestinal mucosal changes in tumor-bearing mouse after treatment. T Nagano, M Yasunaga, K Goto, H Kenmotsu, Y Koga, J Kuroda, Y Nishimura, T Sugino, Y Nishiwaki, Y Matsumura. *Clinical Cancer Research*, 2009. in press.
  12. Y. Lee, T. Ishii, H. Cabral, H.-J. Kim, J.-H. Seo, N. Nishiyama, H. Oshima, K. Osada, K. Kataoka, Charge conversional PIC micelles-an efficient protein nanocarrier into cytoplasm. *Angew. Chem., Int. Ed.*, in press
  13. W. Dong, A. Kishimura, Y. Anraku, C. Sayan, K. Kataoka, Monodispersed polymeric nanocapsules: Spontaneous evolution and morphology transition from reducible hetero-PEG PICmicelles by controlled degradation. *J. Am. Chem. Soc.*, in press
  14. W. Wang, K. Itaka, S. Ohba, N. Nishiyama, U. Chung, Y. Yamasaki, K. Kataoka, Improving



- multipotent differentiation efficiency of mesenchymal stem cells using 3D spheroids method on micropatterned substrates. *Biomaterials*, in press
15. • S. Matsumoto, R.J. Christie, N. Nishiyama, K. Miyata, A. Ishii, M. Oba, H. Koyama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, Environment-responsive block copolymer micelles with a disulfide cross-linked core for enhanced siRNA delivery. *Biomacromolecules*, in press
  16. A. Kishimura, S. Liamsuwan, H. Matsuda, W. Dong, K. Osada, Y. Yamasaki, K. Kataoka, pH-Dependent permeability change and reversible structural transition of PEGylated polyion complex vesicles (PICsomes) in aqueous media. *Soft Matter*, in press
  17. • N. Nishiyama, Y. Nakagishi, Y. Morimoto, P.-S. Lai, K. Miyazaki, K. Urano, S. Horie, M. Kumagai, S. Fukushima, Y. Cheng, W.-D. Jang, M. Kikuchi, K. Kataoka, Enhanced photodynamic cancer treatment by supramolecular nanocarriers charged with dendrimer phthalocyanine. *J. Control. Release*, in press
  18. • H. Cabral, M. Nakanishi, M. Kumagai, W.-D. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka, A photo-activated targeting chemotherapy using glutathione sensitive camptothecin-loaded polymeric micelles. *Pharm. Res.* 26 (1) 82-92 (2009)
  19. • M. Oba, K. Aoyagi, K. Miyata, Y. Matsumoto, K. Itaka, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, H. Koyama, K. Kataoka, Polyplex micelles with cyclic RGD peptide ligands and disulfide cross-links directing to the enhanced transfection via controlled intracellular trafficking. *Mol. Pharm.* 5 (6) 1080-1092 (2008)
  20. K. Miyata, M. Oba, M. Nakanishi, S. Fukushima, Y. Yamasaki, H. Koyama, N. Nishiyama, K. Kataoka, Polyplexes from poly(aspartamide) bearing 1,2-diaminoethane side chains induce pH-selective, endosomal membrane destabilization with amplified transfection and negligible cytotoxicity. *J. Am. Chem. Soc.* 130 (48) 16287-16294 (2008)
  21. • K. Miyata, M. Oba, M. R. Kano, S. Fukushima, Y. Vachutinsky, M. Han, H. Koyama, K. Miyazono, N. Nishiyama, K. Kataoka, Polyplex micelles from triblock copolymers composed of tandemly aligned segments with biocompatible, endosomal escaping, and DNA-condensing functions for systemic gene delivery to pancreatic



- tumor. *Pharm. Res.* 25 (12) 2924-2936 (2008)
22. S. Wu, N. Nishiyama, M. R. Kano, K. Itaka, U. -I. Chung, K. Kataoka, Enhancement of Angiogenesis through Stabilization of Hypoxia Inducible Factor-1 by Silencing Prolyl Hydroxylase Domain 2 Gene. *Mol Ther.* 16 (7) 1227-1234 (2008)
  23. Y. Lee, K. Miyata, M. Oba, T. Ishii, S. Fukushima, M. Han, H. Koyama, N. Nishiyama, K. Kataoka, Charge-conversion ternary polyplex with endosome disruption moiety: A technique for efficient and safe gene delivery. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (28) 5163-5166 (2008).
  24. • S. Takae, K. Miyata, M. Oba, T. Ishii, N. Nishiyama, K. Itaka, Y. Yamasaki, H. Koyama, K. Kataoka, PEG-detachable polyplex micelles based on disulfide-linked block cationomers as bioresponsive nonviral gene vectors. *J. Am. Chem. Soc.* 130 (18) 6001-6009 (2008)
  25. K. Sugisaki, T. Usui, N. Nishiyama, W-D Jang, Y. Yanagi, S. Yamagami, S. Amano, K. Kataoka, Photodynamic therapy for corneal neovascularization using polymeric micelles encapsulating dendrimer porphyrins. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 49 (3): 894-899 (2008)
  26. Suzuki R, Oda Y, Utoguchi N, Namai E, Taira Y, Okada N, Kadowaki N, Kodama T, Tachibana K, Maruyama K. A novel strategy utilizing ultrasound for antigen delivery in dendritic cell-based cancer immunotherapy., *J Control Release.*, 133(3):198-205 (2009)
  27. Negishi Y, Endo Y, Fukuyama T, Suzuki R, Takizawa T, Omata D, Maruyama K, Aramaki Y., Delivery of siRNA into the cytoplasm by liposomal bubbles and ultrasound. *J Control Release.*, 132(2): 124-130 (2008)
  28. Suzuki R, Takizawa T, Negishi Y, Utoguchi N, Maruyama K., Effective gene delivery with novel liposomal bubbles and ultrasonic destruction technology., *Int J Pharm.* 354(1-2): 49-55 (2008)
  29. Zenitani T, Suzuki R, Maruyama K, Furuhashi H, Accelerating effects of ultrasonic thrombolysis with bubble liposomes, *J Med Ultrasonics*, 35:5-10 (2008)
  30. Tsuchihara K, et al. Massive transcriptional start site analysis of human genes in hypoxia cells. *Nucleic Acids Res.* Epub ahead of print. 2009.
  31. Tsuchihara K et al. Autophagy and cancer: Dynamism of the metabolism

- of tumor cells and tissues. *Cancer Lett.* Epub ahead of print, 2008.
32. Kuga W, Tsuchihara K et al. Nuclear localization of SNARK; its impact on gene expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 377: 1062-6. 2008.
  33. Tomasini R, Tsuchihara K et al. TAp73 knockout shows genetic instability with infertility and tumor suppressor functions. *Genes Dev.* 22: 2677-91. 2008.
  34. Tsuchihara K et al. Susceptibility of Snark-deficient mice to azoxymethane-induced colorectal tumorigenesis and the formation of aberrant crypt foci. *Cancer Sci.* 99: 677-82. 2008.
  35. Momose, I., Kunimoto, S., Osono, M., Ikeda, D. Inhibitors of insulin-like growth factor-1 receptor tyrosine kinase are preferentially cytotoxic to nutrient-deprived pancreatic cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 380: 171-176 (2009).
  36. Iijima, M., Momose, I., Ikeda, D. TP-110, A new proteasome inhibitor, down-regulates IAPs in human multiple myeloma cells. *Anticancer Res.* 29: in press (2009).
  37. Watanabe, T., Momose, I., Abe, M. Abe, H., Sawa, R., Umezawa, Y., Ikeda, D., Takahashi, Y., Akamatsu, Y. Synthesis of boronic acid derivatives of tyropeptin: proteasome inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: in press (2009).
  38. Kawada, M., Momose, I., Someno, T., Tsujiuchi, G., Ikeda, D. New atpenins, NBRI23477 A and B, inhibit growth of human prostate cancer cells. *J. Antibiotics* 62: in press (2009)
  39. Fujii S, Mitsunaga S, Yamazaki M, Hasebe T, Ishii G, Kojima M, Kinoshita T, Ueno T, Esumi H, Ochiai A. Autophagy is activated in pancreatic cancer cells and correlates with poor patient outcome. *Cancer Sci.* 99(9): 1813-1819, 2008.
  40. Ueno T, Sato W, Horie Y, Komatsu M, Tanida I, Yoshida M, Ohshima S, Mak TW, Watanabe S, Kominami E. Loss of Pten, a tumor suppressor, causes the strong inhibition of autophagy without affecting LC3 lipidation. *Autophagy.* 4(5): 692-700, 2008
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 松村保広、眞鍋史乃、安永正浩、癌間質の構成因子に対して特異的結合能を有する物質と抗腫瘍性化合物との複合体による新規の癌々

ーゲティング治療特願  
2008-293930

2. 片岡一則、石井篤史、西山伸宏、加藤泰己、宮田完二郎、キム ヒョンジン、武元宏泰、非荷電性親水性ブロック及び側鎖の一部に疎水性基が導入されたカチオン性のポリアミノ酸ブロックを含んでなる共重合体、その使用、特願2008-059886
3. 片岡一則、LEE, Yan、宮田完二郎、大庭誠、電荷変換型三元系ポリブレックス、アメリカ (Provisional 出願) 61/126,077
4. 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、PCT/JP2008/070154

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

研究代表者 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。本年度は特に、NK012につき、胃がん、脳腫瘍同所移植系での評価を行った。

#### 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ているが、本年度は特に NK012 の胃がんおよび脳腫瘍同所移植系での評価を報告する。進行胃がんに対する化学療法の生存中央値はよくても 13 ヶ月である。特に、スキルス胃がんは腹膜播種をおこしやすく、それにより、腹水、イレウス、尿管閉塞、胆管閉塞などを伴い、患者の QOL が非常に悪いがんである。スキルス胃がんは腫瘍血管が少なく、かつ、腫瘍間質に富む。この間質の存在は薬剤のがん細胞へのデリバリーの障壁となると考えられる。実際、胃が

んだけでなく、膵がんも間質が多く、抗がん剤が効きにくいがんの一つである。大腸がんや肺がんなども間質が発達していて、血管が豊富で間質が少ないがんは乳がんや卵巣がんなどで、これらは、抗がん剤が効きやすい。非臨床ではヒト細胞株の皮下移植モデルが使用されるが、これは細胞がヒト由来であるというだけであり、実際のヒトのがんと比べると、腫瘍脈管も間質もあきらかに異なり、ほとんどの皮下移植腫瘍は、ヒトのリンパ腫に近い組織形態をしている。このような背景から、よりヒトの腫瘍組織に近い状況で抗腫瘍効果をみるために、胃がん同所移植腫瘍および腹膜播種モデルにおいて、薬効の検討を行うこととした。脳腫瘍に関しては、薬剤が血液脳関門を通過するか否か、特に DDS 製剤では重要な問題であるので、やはりヒト



グリオーマ細胞をヌードマウス脳に同所移植を行い、薬効薬理の検討を行った。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) ルシフェラーゼ強制発現ヒト胃がん細胞株 44As3 をマウス胃壁に同所移植を行った。同所移植腫瘍は皮下腫瘍と比べて、間質が著明に発達しており、またヒト胃がんの腹膜播種に近い多発性の腹膜結節が観察された。このモデルにおいて、CPT-11 の MTD 量である 66.7mg/kg を3日おきに、NK012 の MTD 量である 30mg/kg を3日おきに静注し、抗腫瘍効果、薬剤分布など検討した。

2) ヒト脳腫瘍同所移植モデルに関しては、ルシフェラーゼ強制発現ヒトグリオーマ U87MG をヌードマウス脳半球に同所移植し、CPT-11 の MTD 量である 66.7mg/kg を3日おきに、NK012 の MTD 量である 30mg/kg を3日おきに静注し、抗腫瘍効果、薬剤分布など検討した。

3) がん関連抗体の作製のため健常人ヒト子宮剥離上皮細胞と子宮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) NK012 群で著明な抗腫瘍効果を認めたのに対し、CPT-11 ではコントロールに比べて、ほとんど抗腫瘍効果を認めなかった。生存においても移植後150日のNK012投与群の生存率が80%に対し、CPT-11 群では0%であった。この結果について薬理学的に検討したところ、同所移植腫瘍では、それぞれの薬剤投与後1時間においてCPT-11 投与後の腫瘍内 SN-38 はNK012 投与後の SN-38 濃度より有意に高かったが、24時間後ではNK012 投与群において1時間値より有意に著しく高濃度になったのに対し、CPT-11 投与群での腫瘍内 SN-38 は1時間値に対し有意に減少していた。72時間後においては、NK012 投与後では、まだ腫瘍内 SN-38 が認められるのに対し、CPT-11 投与後においては検出限界以下であった。これらのことは、腹膜に播種した結節においてもほぼ同様な結果であった。

2) 脳腫瘍内にはCPT-11 もNK012 も高濃度に分布していたが、CPT-11 は6時間以降の分布はみとめられなかったのに対し、NK012 は数日間高濃度に分布していた。このことは血液脳腫瘍関門を両薬剤が通過することを意味する。一方、正常脳組織への両薬剤の分布は認められなかった。すなわち血液脳関門は通過しないことが判明した。

3) cDNA アレー解析では新規、既知含めて 10 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。

#### 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。SN-38 はそもそも、その抗腫瘍効果が時間依存性である。NK012 のように、選択的腫瘍集積性が高く、また、長時間徐放的にミセル内の低分子抗がん剤をリリースし、腫瘍内全体に長時間 SN-38 の分布を維持する DDS 製剤は抗腫瘍メカニズムの理にかなっていると考える。また、現在我々が作成中の抗体とハイブリッドすることにより、さらなる抗腫瘍効果のパワーアップをはかる予定である。

#### E. 結論

日米で NK012 の臨床第 1 相試験が行われた。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. J Kuroda, J Kuratsu, M Yasunaga, Y Koga, Y Matsumura. Potent antitumor effect of SN-38-incorporating polymeric

micelle, NK012, against malignant glioma. *Int J Cancer*. 124;2505-2511,2009.

2. Y Matsumura. Poly (amino acid) micelle nanocarriers in preclinical and clinical studies. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (eds. VHL Lee, MK Forrest, and GS Kwon) Elsevier B.V. V.60/8 pp. 899-914, 2008
3. Y Matsumura. Polymeric micellar delivery systems in Oncology. *Jpn J Clin Oncol*. 38(12):793-802, 2008.
4. Nakajima-Eguchi T, Yanagihara K, Takigahara M, Yasunaga M, Kato K, Hamaguchi T, Yasuhide Yamada, Yasuhiro Shimada, Keichiro Mihara, Takahiro Ochiya, Yasuhiro Matsumura. Antitumor effect of SN-38-releasing polymeric micelles, NK012, on spontaneous peritoneal metastases from orthotopic gastric cancer in mice compared with irinotecan. *Cancer Res*. 68(22):9318-9322,2008.
5. M Sumitomo, F Koizumi, T Asano, A Horiguchi, K Ito, T Asano, T Kakizoe, M Hayakawa, Y Matsumura. Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, strongly suppress renal cancer progression. *Cancer Res*. 68(6):1631-1635, 2008.

6. T Nakajima, M Yasunaga, Y kano, F Koizumi, K Kato, T Hamaguchi, Y Yamada, K Shirao, Y Shimada, Y Matsumura. 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.
  7. Y Saito, M Yasunaga, J Kuroda, Y Koga, Y Matsumura. Enhanced distribution of NK012 and prolonged sustained-release of SN-38 within tumors are the key strategic point for a hypovascular tumor. *Cancer Sci*, 99; 6, 1258-1264, 2008.
  8. K Sai, Y Saito, M Itoda, H Fukushima-Uesaka, T Nishimaki-Mogami, S Ozawa, K Maekawa, k Kurose, N Kaniwa, M Kawamoto, Naoyuki Kamatani, K Shirao, T Hamaguchi, N Yamamoto, H Kunitoh, Y Ohe, Y Yamada, T Tamura, T Yoshida, H Minimai, Y Matsumura, A Ohtsu, N Saijo, J Sawada. Genetic Variations and Haplotypes of ABCC2 encoding MRP2 in a Japanese population. *Drug Metab. Pharmacokinet*. 23(2): 139-147, 2008.
  9. R Suzuki, T Takizawa, Y Negishi, N Utoguchi, K Sawamura, K Tanaka, E Namai, Y Oda, Y Matsumura, K Maruyama. Tumor specific ultrasound enhanced gene transfer in vivo with novel liposomal bubbles. *Journal of controlled release*. 125: 137-144, 2008.
  10. Low-intensity ultrasound and microbubbles enhance the antitumor effect of cisplatin. Y Watanabe, A Aoi, S Horie, N Tomita, S Mor, H Morikawa, Y Matsumura, G Vassaux, T Kodama. *Cancer Sci*. 99(12): 2525-2531, 2008.
  11. Antitumor activity of NK012 combined with cisplatin against small-cell lung cancer and intestinal mucosal changes in tumor-bearing mouse after treatment. T Nagano, M Yasunaga, K Goto, H Kenmotsu, Y Koga, J Kuroda, Y Nishimura, T Sugino, Y Nishiwaki, Y Matsumura. *Clinical Cancer Research*, 2009. in press.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
松村保広、眞鍋史乃、安永正浩  
 癌間質の構成因子に対して特異的結合能を有する物質と抗腫瘍性化合物との複合体による新規の癌ターゲットング治療  
 特願 2008-293930



## 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

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、DACHPt内包ミセルに関して、1)がん細胞パネルを用いた薬効試験、2)ヒト大腸がん HT29 細胞のオキサリ耐性株に対する *in vitro* および *in vivo* 薬効試験を行った。その結果、DACHPt 内包ミセルは、HT29 細胞をはじめとするいくつかのがん細胞に対してオキサリプラチチンと同等以上の制がん活性を有しており、HT29 細胞のオキサリプラチチン耐性株に対しても優れた制がん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、内核に制がん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、優れた制がん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、これまでに制がん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試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、1)がん細胞パネルを用いた薬効試験、2)ヒト大腸がん HT29 細胞のオキサリ耐性株に対する薬効試験を行った。

### B. 研究方法

1) がん細胞パネルを用いた DACHPt 内包ミセルの薬効試験

癌研究会癌化学療法センターの矢守隆夫博士との共同研究によって、シスプラチン(CDDP)および DACHPt 内包ミセルの 32 個のがん細胞パネルに対する 48 時間後の細胞毒性を評価した(胃がん由来 MKN74, MKN45, MKN28, MKN7, MKN1, St-4, 腎がん由来 ACHN, 卵巣がん由来 OVCAR-5, OVCAR-4, OVCAR-3, メラノーマ由来 LOX-IMVI, 肺がん由来 DMS114, DMS273,

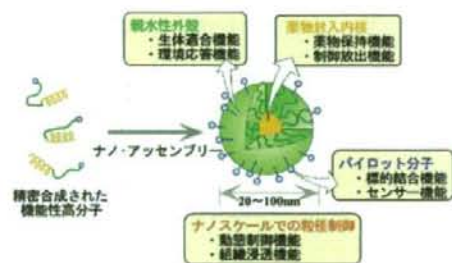


図1. 高分子ミセル型 DDS の概念図



A549, NCI-H460, NCI-H522, NCI-H226, NCI-H23, 大腸がん由来 HCT-116, HCT-15, HT-29, KM-12, HCC2998, 脳腫瘍由来 SF-539, SF-295, SF-268, U-251, 乳がん由来 MDA-MB-231, MCF-7, HBC-5, BSY-1, HBC-4)。得られた結果より 50%細胞増殖阻止濃度(IC<sub>50</sub> 値)を算出し、そのミセル型薬剤とのフリーの薬剤の比(CDDP 内包ミセル/CDDP 単独および DACHPt 内包ミセル/オキサリプラチン)を算出した。

### 2) ヒト大腸がん HT29 細胞オキサリプラチン耐性株(HT29/ox)の調製

上記のがん細胞パネルにおいて、DACHPt 内包ミセルによる高い細胞毒性が確認された HT29 細胞に関してオキサリプラチン耐性株の調製を行った。このオキサリプラチン耐性株の調製は、HT29 細胞を 400, 800, 1600 ng/mL のオキサリプラチン含有した McCoy's 5A 培地(10%血清, 1%ペニシリン/ストレプトマイシン含有)中で持続培養することによって調製した。

### 3) HT29 および HT29/ox 細胞に対する細胞毒性および in vivo 制がん活性評価

(細胞毒性評価) HT29 および HT29/ox 細胞をオキサリプラチンおよび DACHPt 内包ミセルと 48 時間培養した。その後、細胞生存率を MTT assay によって評価した。

(in vivo 制がん活性評価) Balb-c/nu/nu(♀, 6 週齢)の皮下に HT29 および HT29/ox 細胞(1 × 10<sup>7</sup> cells)を移植した。一週間後、腫瘍のサイズが 50mm<sup>3</sup> に到達したことを確認し、オキサリプラチン(8 mg/kg)および DACHPt 内包ミセル(4 mg/kg)を 1 日おきに 3 回投与した。薬剤投与後の腫瘍体積は、(短径)<sup>2</sup> × (長径) × 0.5 より算出した。

## C. 研究結果

### 1) がん細胞パネルを用いた DACHPt 内包ミセルの薬効試験

図 2(A)および(B)にそれぞれ CDDP 内包ミセル/CDDP 単独および DACHPt 内包ミセル/オキサリプラチンの IC<sub>50</sub> 値の比を示す。その結果、CDDP 内包ミセルはどの細胞においても CDDP 単独の 10 倍の IC<sub>50</sub> 値(すなわち 1/10 の細胞毒性)を示したが、DACHPt 内包ミセルの IC<sub>50</sub> 値はオキサリブ

ラチンの IC<sub>50</sub> 値の 1/10 以下であり、HT29 細胞をはじめとするいくつかの細胞においてはオキサリプラチンを越える細胞毒性が確認された。

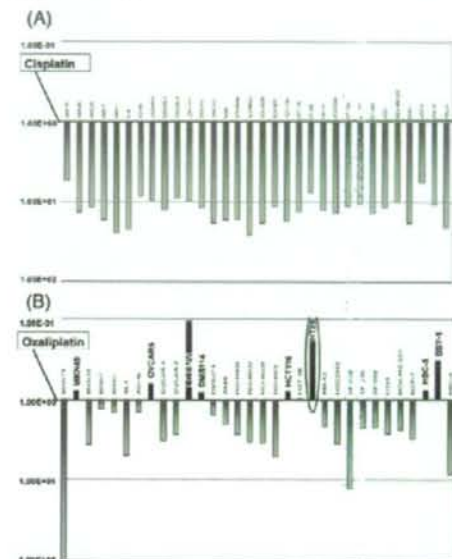


図 2. がん細胞パネルを用いた CDDP 内包ミセル(A)および DACHPt 内包ミセル(B)の細胞毒性評価

### 2) HT29 および HT29/ox 細胞に対する細胞毒性評価

HT29/ox 細胞は、400 ng/mL のオキサリプラチン存在下で 28 日間培養(3 日おきに培地交換)することによって調製した。樹立された HT29/ox は、オキサリプラチンに対して HT29 parent cell の 10.7 倍の IC<sub>50</sub> 値を示すことが確認された。そこで、HT29 および HT29/ox 細胞とオキサリプラチンおよび DACHPt 内包ミセルを 48 時間培養し、細胞毒性を評価した(表 1)。

表 1. HT29 および HT29/ox 細胞に対するオキサリプラチンおよび DACHPt 内包ミセルの IC<sub>50</sub> 値

|         | Oxaliplatin | DACHPt 内包ミセル |
|---------|-------------|--------------|
| HT29    | 2.2 μM      | 0.47 μM      |
| HT29/ox | 23.7 μM     | 0.19 μM      |

表 1 の結果、DACHPt 内包ミセルは、HT29

に対してはオキサリプラチンの 4.7 倍の細胞毒性を示し、HT29/ox に対しては 125 倍の細胞毒性を示した。驚くべきことに、DACHPt 内包ミセルは、HT29 よりも HT29/ox に対してより高い細胞毒性(低い IC<sub>50</sub> 値)を示すことが確認された。

3) HT29 および HT29/ox 細胞のマウス皮下移植モデルを用いた in vivo 制がん活性評価

HT29 および HT29/ox 細胞の皮下移植モデルに対してオキサリプラチン(8 mg/kg)および DACHPt 内包ミセル(4 mg/kg)を 1 日おきに 3 回投与した場合の相対腫瘍体積変化を図 3 に示した。

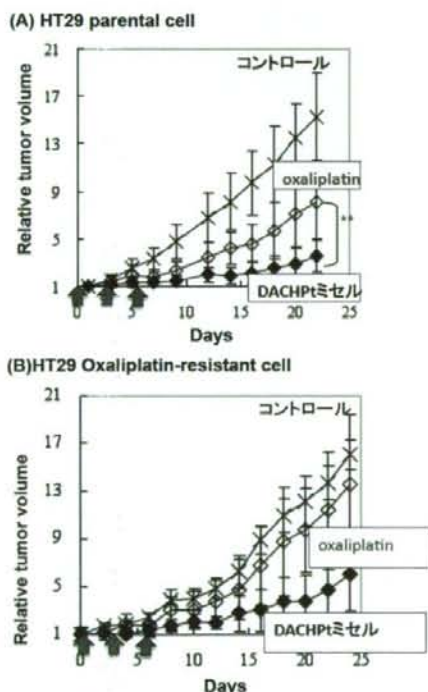


図 3. HT29 および HT29/ox のマウス皮下移植モデルに対する in vivo 制がん活性評価

図 3 の結果、HT29 腫瘍においては、オキサリプラチンと DACHPt 内包ミセルは共に有意な制がん活性を示し、DACHPt 内包ミセルはオキサリプラチンよりも有意に高い制がん活性を有することが確認された ( $P < 0.005$ )。一方、HT29/ox においては、オキサリプラチンは有意な制がん活性を示さ

なかった ( $P > 0.1$ )、DACHPt 内包ミセルはコントロール、オキサリプラチンよりも有意に高い制がん活性を示すことが明らかとなった ( $P < 0.001$ )。

#### D. 考察

本年度は、第一にがん細胞パネルを用いて、CDDP 内包ミセルおよび DACPt 内包ミセルの細胞毒性を評価した。その結果、CDDP 内包ミセルは CDDP 単独の 1/10 の制がん活性を示したが、DACHPt 内包ミセルの IC<sub>50</sub> 値はオキサリプラチンの IC<sub>50</sub> 値の 1/10 以下であり、HT29 細胞をはじめとするいくつかの細胞においてはオキサリプラチンを越える細胞毒性が確認された。一般的に、フリーの薬剤は速やかに細胞内に取り込まれるが、高分子ミセルは、エンドサイトーシス経路によって細胞内に取り込まれるために、ミセル型制がん剤の薬効の発現には時間を要し、多くの場合にフリーの薬剤よりも見かけ上低い細胞毒性を示すことが多い。これに対して、DACHPt 内包ミセルは、フリーの薬剤との比べて比較的高い細胞毒性を有しており、従来型ミセル型抗がん剤とは異なる薬効を示すことが示唆された。

そこで本研究では、DACHPt 内包ミセルが特に高い細胞毒性を示した HT29 細胞に関して、オキサリプラチン耐性株 HT29/ox を樹立し、HT29 および HT29/ox に対するオキサリプラチンおよび DACHPt 内包ミセルの細胞毒性を評価した。その結果、DACHPt 内包ミセルは、HT29/ox に対しても高い細胞毒性を示し、驚くべきことにその IC<sub>50</sub> 値は HT29 よりも低いことが明らかになった。また、皮下移植モデルを用いた in vivo 制がん活性を行ったところ、DACHPt 内包ミセルは HT29 と HT29/ox のどちらの固形がんモデルに対しても優れた制がん活性を示し、オキサリプラチン耐性を克服できることが明らかとなった。

以上のように、DACHPt 内包ミセルは、従来型ミセル型制がん剤と異なり、いくつかのがん細胞においてフリーの薬剤と同等以上の細胞毒性を示す一方で、オキサリプラチン耐性を克服した。このメカニズムは、未だ明らかになっていないが、これまでの



結果より、DACHPt内包ミセルは、CDDP内包ミセルより高い安定性を有することが確認されており、このような高い安定性がその特異的な薬効メカニズムに寄与しているものと思われる。すなわち、我々は、DACHPt内包ミセルはエンドサイトーシスによって取り込まれた後、リソソームから活性型DACHPtを放出することによって、高い細胞毒性を示すことができるものと考えている。今後は、蛍光標識DACHPt内包ミセルを用いた細胞内挙動の解析や細胞内やゲノムDNA中の白金量の定量を行い、DACHPt内包ミセルの制がん活性のメカニズムを解明したいと考えている。

#### E. 結論

本年度は、DACHPt内包ミセルに関して、1)がん細胞パネルを用いた薬効試験、2)ヒト大腸がんHT29細胞のオキサリ耐性株に対する薬効試験を行った。その結果、DACHPt内包ミセルは、HT29細胞をはじめとするいくつかのがん細胞に対してオキサリプラチンと同等以上の制がん活性を有しており、HT29細胞のオキサリプラチン耐性株に対しても優れた制がん活性を示すことが明らかとなった。今後は、DACHPt内包ミセルの制がん効果のメカニズムについて詳細な検討を行っていく予定である。

#### 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. Y. Lee, T. Ishii, H. Cabral, H.-J. Kim, J.-H. Seo, N. Nishiyama, H. Oshima, K. Osada, K. Kataoka, Charge conversional PIC micelles-an efficient protein nanocarrier into cytoplasm. *Angew. Chem., Int. Ed.*, in press
2. W. Dong, A. Kishimura, Y. Anraku, C. Sayan, K. Kataoka, Monodispersed polymeric nanocapsules: Spontaneous evolution and morphology transition from reducible hetero-PEG PICmicelles by

controlled degradation. *J. Am. Chem. Soc.*, in press

3. W. Wang, K. Itaka, S. Ohba, N. Nishiyama, U. Chung, Y. Yamasaki, K. Kataoka, Improving multipotent differentiation efficiency of mesenchymal stem cells using 3D spheroids method on micropatterned substrates. *Biomaterials*, in press
4. ○ S. Matsumoto, R.J. Christie, N. Nishiyama, K. Miyata, A. Ishii, M. Oba, H. Koyama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, Environment-responsive block copolymer micelles with a disulfide cross-linked core for enhanced siRNA delivery. *Biomacromolecules*, in press
5. A. Kishimura, S. Liamsuwan, H. Matsuda, W. Dong, K. Osada, Y. Yamasaki, K. Kataoka, pH-Dependent permeability change and reversible structural transition of PEGylated polyion complex vesicles (PICsomes) in aqueous media. *Soft Matter*, in press
6. ○ N. Nishiyama, Y. Nakagishi, Y. Morimoto, P.-S. Lai, K. Miyazaki, K. Urano, S. Horie, M. Kumagai, S. Fukushima, Y. Cheng, W.-D. Jang, M. Kikuchi, K. Kataoka, Enhanced photodynamic cancer treatment by supramolecular nanocarriers charged with dendrimer phthalocyanine. *J. Control. Release*, in press
7. ○ H. Cabral, M. Nakanishi, M. Kumagai, W.-D. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka, A photo-activated targeting chemotherapy using glutathione sensitive camptothecin-loaded polymeric micelles. *Pharm. Res.* 26 (1) 82-92 (2009)
8. ○ M. Oba, K. Aoyagi, K. Miyata, Y. Matsumoto, K. Itaka, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, H. Koyama, K. Kataoka, Polyplex micelles with cyclic RGD peptide ligands and disulfide cross-links directing to the enhanced transfection via controlled intracellular trafficking. *Mol. Pharm.* 5 (6) 1080-1092 (2008)
9. K. Miyata, M. Oba, M. Nakanishi, S. Fukushima, Y. Yamasaki, H. Koyama, N. Nishiyama, K. Kataoka, Polyplexes from poly(aspartamide) bearing

- 1,2-diaminoethane side chains induce pH-selective, endosomal membrane destabilization with amplified transfection and negligible cytotoxicity. *J. Am. Chem. Soc.* 130 (48) 16287-16294 (2008)
10. ○ K. Miyata, M. Oba, M. R. Kano, S. Fukushima, Y. Vachutinsky, M. Han, H. Koyama, K. Miyazono, N. Nishiyama, K. Kataoka, Polyplex micelles from triblock copolymers composed of tandemly aligned segments with biocompatible, endosomal escaping, and DNA-condensing functions for systemic gene delivery to pancreatic tumor. *Pharm. Res.* 25 (12) 2924-2936 (2008)
  11. S. Wu, N. Nishiyama, M. R. Kano, K. Itaka, U. -I. Chung, K. Kataoka, Enhancement of Angiogenesis through Stabilization of Hypoxia Inducible Factor-1 by Silencing Prolyl Hydroxylase Domain 2 Gene. *Mol. Ther.* 16 (7) 1227-1234 (2008)
  12. Y. Lee, K. Miyata, M. Oba, T. Ishii, S. Fukushima, M. Han, H. Koyama, N. Nishiyama, K. Kataoka, Charge-conversion ternary polyplex with endosome disruption moiety: A technique for efficient and safe gene delivery. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (28) 5163-5166 (2008)
  13. ○ S. Takae, K. Miyata, M. Oba, T. Ishii, N. Nishiyama, K. Itaka, Y. Yamasaki, H. Koyama, K. Kataoka, PEG-detachable polyplex micelles based on disulfide-linked block cationomers as bioresponsive nonviral gene vectors. *J. Am. Chem. Soc.* 130 (18) 6001-6009 (2008)
  14. K. Sugisaki, T. Usui, N. Nishiyama, W-D Jang, Y. Yanagi, S. Yamagami, S. Amano, K. Kataoka, Photodynamic therapy for corneal neovascularization using polymeric micelles encapsulating dendrimer porphyrins. *Invest. Ophth. Vis. Sci.* 49 (3): 894-899 (2008)
- (和文) なし
2. 総説  
(欧文)
  1. K. Itaka, K. Kataoka, Recent development of nonviral gene delivery systems with virus-like structures and mechanisms. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, in press
- (和文)
1. 西山伸宏、片岡一則：シスプラチン内包高分子ミセル、*MebioOncology* 5 (1) 49-57 (2008)
  2. 位高啓史、片岡一則：医療ナノテクノロジーから医療システムイノベーションへ、*学術の動向* 13 (9) 74-77 (2008)
  3. 位高啓史、片岡一則：高分子ナノミセル型キャリアのドラッグデリバリーシステムへの展開、*臨床血液* 49 (5) 287-293 (2008)
  4. 宮田完二郎、片岡一則：DDS・遺伝子治療とナノテクノロジー、*分子細胞治療* 7 (1) 26-33 (2008)
3. 学会発表  
(国内学会)
  1. 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～高分子ミセル型ナノデバイスによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー～、ナノ学会第6回大会、九州大学医学部百年記念講堂、福岡、2008.5.7、基調講演
  2. 片岡一則、遺伝子治療実用化に向けたインテリジェント超分子ナノデバイスの構築、遺伝子・デリバリー研究会第8回シンポジウム、千里ライフサイエンスセンター、豊中市、2008.5.9、招待講演
  3. 片岡一則、遺伝子治療実用化に向けた高分子ミセル型ナノデバイスの創製、日本薬剤学会第23年会、札幌コンベンションセンター、札幌市、2008.5.22、招待講演
  4. 片岡一則、Supramolecular Nanodevice Assembled from Smart Block Copolymers as Non-viral Gene Vector、第14回日本遺伝子治療学会、札幌医科大学、札幌、2008.6.14、招待講演
  5. 片岡一則、ナノ治療イノベーションを実現する超分子ナノデバイス設計、第7回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、東京、2008.7.4、特別講演
  6. 片岡一則、超分子ナノデバイスによるDDSイノベーション、第24回日本