

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）
総合研究報告書

研究総括

研究代表者 小賊 健一郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授

研究要旨

本研究の目的は、独自開発のm-CRA（多因子で癌特異化する増殖制御型アデノウイルスベクター）作製技術を基盤に、独創的な癌幹細胞の同定・標的治療技術の開発であり、さらにこれらの技術を臨床応用に結びつけていくことである。主任研究者の研究室での技術開発を中心に、さらに分担研究者の癌幹細胞や癌悪性化に関するオリジナルの研究成果、さらに正常幹細胞や糖鎖技術といった異分野の分担研究者の技術も融合することで、研究グループとして一体となって上記の研究目的に即した各課題の研究開発を進めて来た。詳細は以下に記載するが、その概要をまとめると以下である。

- 1) 第一弾医薬候補の Survivin 反応性 m-CRA (Surv.m-CRA) は臨床応用を進めるべく、平成27年度に医師主導治験開始できるように GMP 製造、GLP 非臨床試験、当局 (PMDA) 対応など行って来た。
- 2) Surv.m-CRA は癌の全分画に治療効果があるだけでなく、「癌幹細胞(つまり悪性化が増せば)むしろ治療効果が増加する」という結果を得、従来の治療法への優位性を実証した。さらにこれを一般化すべく、他の癌幹細胞モデル、他の m-CRA でも、この革新的治療効果を実証した。
- 3) 癌幹細胞のみを標的治療する技術の開発を試み、癌幹細胞で高発現する X 分子に反応性の m-CRA を新規で開発し、その機能解析や治療効果を確かめた。
- 4) 正常幹細胞(未分化)ならびに癌幹細胞を標的する候補となる遺伝子プロモーターもリコンビネーションで簡単に交換可能で網羅的解析を可能とし、標的する蛍光蛋白、殺傷遺伝子も搭載したベクターシステムを開発した。この独自システムにて、癌幹細胞や正常幹細胞を標的できる適切なプロモーターの同定、ならびにこれらの正常や癌の幹細胞を効果的に殺傷治療できる自殺遺伝子の同定を開始した。
- 5) 骨軟部悪性腫瘍細胞において、Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3)陽性細胞ががん幹細胞様の性質を持つことを見いだした。さらに骨軟部肉腫における Hedgehog シグナルの機能解析を行い、最終的に白血病治療薬の三酸化ヒ素(ATO)による、骨肉腫増殖抑制能を見出した。
- 6) 試験管内でグリオブラストーマ(神経膠芽腫、GBM)形成能力を有する人工がん幹細胞(mGIC)の作製に成功した。さらにその性状解析から治療標的分子の研究を進め、新規GIC特異的マイクロRNA(miRNA)群を同定した。特にmiR-340がプラスミノーゲンアクチベーターを含む様々な機能因子の発現抑制を介して腫瘍形成を阻害することを明らかにした。
- 7) 癌と正常の幹細胞の分子機構解明という観点から、iPS細胞の研究も進めた。また、がん幹細胞を標的にした遺伝子治療の実現化には、日本人由来のがん幹細胞株を用いた研究が必要だが、安定したがん幹細胞株の樹立はいまだに困難である。この克服のために、腫瘍細胞のモデルにもなり得るヒトiPSを多くの日本人から樹立することを目指し現在までに約300人分の親知らず由来の歯髄細胞を培養し、凍結保存してきた。この細胞を用いて10以上の日本人細胞からiPS細胞を安定して樹立することに成功した。また、iPS細胞の樹立効率の個人差を基に、新規リプログラミング因子を発見した。
- 8) ウイルスベクターへ結合する糖鎖を同定し、糖鎖固定化ナノ粒子にて、アデノウイルスベクターの高効率かつ簡便な濃縮法を開発している。その最終目的のため、ウイルスベクターへ結合する糖鎖の研究を進めた。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

三井 薫	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・講師
入江 理恵	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・助教
伊地知暢広	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・助教（平成25年度から）
王 宇清	鹿児島大学産学連携推進センター・プロジェクト研究員（平成24年度から）
小宮 節郎	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授
瀬戸口啓夫	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・助教
坂本 泰二	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授
夏越 祥次	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授（平成23年度から）
隅田 泰生	鹿児島大学大学院理工学研究科・教授
國貞 隆弘	岐阜大学医学系研究科・教授
近藤 亨	北海道大学遺伝子病制御研究所・教授

A. 研究目的

独自開発の「多因子での癌特異的増殖制御型アデノウイルス」(m-CRA)技術を基盤に、厚労科研（三次がん一期）で「既存技術を治療効果と安全性で大きく凌ぐ Survivin 依存性 m-CRA (Surv.m-CRA)の開発」等、同（二期）で「癌幹細胞治療への Surv.m-CRA の応用」等の成果を上げてきた。これを踏まえて本研究の主な目的は以下である。

Surv.m-CRA の臨床化実現
m-CRA と癌幹細胞のオリジナルの基盤技術の開発

「癌幹細胞への分化誘導による悪性化除去」の新規遺伝子治療戦略の開発

癌幹細胞を真に同定し標的治療できる完全オリジナルの m-CRA ベクターの開発

B. 研究方法

Surv.m-CRAの臨床応用（小賤研究室）
三次がん（一～二期）で開発したSurv.m-CRAの臨床試験（医師主導治験）の実現を目指す。

m-CRAと癌幹細胞のオリジナルの基盤技術の開発

- (i) X分子依存性m-CRA(X.m-CRA)の開発（小賤研究室）：癌で高発現するX分子に注目して開発して基本性能まで確認したX.m-CRAを、臨床応用化の有用性を検証していく。
- (ii) CD9 shRNA m-CRA癌治療（小賤研究室）：不妊の作用以外には機能未知だったY分子が、血管新生作用に必須の分子であることを見出した。Y shRNA搭載のSurv.m-CRA等で新規治療法を開発する。
- (iii) 癌幹細胞分離技術の開発：グリオーマ（近藤、國貞）と横紋筋肉腫（瀬戸口）の幹細胞分離法を確立している。さらに新規マーカーや、その分子メカニズムを解明し、治療法開発に繋げる。またこれらの成果を新規のm-CRA癌治療にも応用開発していく。
- (iv) 糖鎖ナノテクノロジーによる新技術（隅田）：分離濃縮した癌幹細胞の糖鎖チップ解析で癌幹細胞特異化の表面分子を見だし、ウイルス濃縮法を確立する。最終的にはm-CRAのターゲット技術に応用する。

「癌幹細胞への分化誘導により悪性化除去」という新たな遺伝子治療戦略の開発（近藤、小賤）

ある分子の強発現で癌幹細胞の腫瘍形成能を阻止できることを見出した。これを新たな遺伝子治療に応用する。

癌幹細胞を真に同定し標的治療できる完全オリジナルのm-CRAベクターの開発

癌幹細胞を標的する候補プロモーターでウイルス増殖制御されるm-CRAを開発し、癌幹細胞へのターゲット治療効果を検証する。

癌と正常幹細胞からの新規標的機構と分子の解明

癌幹細胞だけでなく、正常幹細胞であるES/iPS細胞から、癌幹細胞の生物学的メカニズムを解明していく。その成果を最終的に治療法開発に応用する。

（倫理面への配慮） 遺伝子組換え、動物実験の計画は、承認されたものであり、それぞれの法規や規定に従い、適切に実験を行う。

C. 研究結果

独自開発の m-CRA (多因子で癌特異化する増殖制御型アデノウイルスベクター)作製技術を基盤に、独創的な癌幹細胞の同定・標的治療技術の開発を目的としている。分担研究者の癌幹細胞と癌悪性化に関するオリジナルの研究成果を主任研究者らの m-CRA ベクターに応用し、また糖鎖技術からのベクター技術の改良開発という連携した研究体制で、以下の成果を上げてきた。

1) 第三次対がん厚生労働科研等にて開発した基盤 m-CRA 技術(日米欧にて特許取得)による第一弾医薬候補の Survivin 反応性 m-CRA (Surv.m-CRA)(米国特許取得)に関し、この技術分野での本邦初の医師主導治験の準備(GMP 製造、GLP 基準の非臨床試験、PMDA 事前相談等)を進めた。平成 27 年度の医師主導治験開始のスケジュールに沿って、バイオディストリビューションスタディ、単回投与毒性試験、GMP 製造と品質試験など順調に進めることができた。昨年から進めていたものが、計画通り今年もさらに進捗しており、平成 27 年度に医師主導治験が開始できる見込みである。

また合わせて実施大学となる本学の革新医薬の治験実施への体制整備も進めた。

2) 難治の原因の癌幹細胞の治療に対する m-CRA 戦略の有効性を調べる研究は、さらに詳細に解析し進めた。

まず上記のように治験を計画している Surv.m-CRA では、癌幹細胞分画では Survivin の内因性発現のさらなる増加、Survivin promoter 活性の上昇が有意に認められ、Surv.m-CRA の治療効果のさらなる増強という事実を、詳細な in vitro と in vivo の実験で実証できた(J Trans Med 2014)。従来の治療法(抗癌剤、放射線など)は悪性化の高い癌細胞(癌幹細胞)では治療効果が無効になるのとは逆のベクトルで、Surv.m-CRA は全分画に治療効果があるだけでなく、「悪性化が増せばむしろ治療効果が増加する」という結果は従来の治療法に対する優位性として、この臨床開発を推進できる成果である。

さらに、「m-CRA は、癌一般で、癌全分画を殺傷できる上に、癌幹細胞はさらに強力に殺傷できるか」ということを検証するため、この Surv.m-CRA、あるいは新型の m-CRA で、他のマーカーで他の組織形の癌幹細胞に対する治療効果を同様の方法で検証した。この結果、やはり m-CRA は癌の全分画を効率よく殺傷できるだけでなく、癌幹細胞では治療効果が増強する、という、好ましい結果が得

られた。

従来の治療法(抗癌剤、放射線など)は悪性化の高い癌細胞(癌幹細胞)では治療効果が無効になるのとは逆のベクトルで、Surv.m-CRA は全分画に治療効果があるだけでなく、「悪性化が増せばむしろ治療効果が増加する」という結果は従来の治療法に対する優位性として、この臨床開発を推進できる成果で、意義深いものである。

3) Surv.m-CRA の全癌分画への治療面での有用性とは別の観点で、癌幹細胞を標的治療できる、新たな m-CRA 技術の開発に取り組んだ。この観点より、癌幹細胞で高発現するある分子 X に着目し、X の発現に反応して増殖制御する m-CRA の開発を行って来た。

まず X 遺伝子の 5 種類の候補プロモーターをクローニングし、これらの X 遺伝子プロモーターの特性解析、特に癌幹細胞でのプロモーター強度と特異性をそれぞれ検証した。つぎに実際に X 反応性 m-CRA (X.m-CRA) を作製した。In vitro で、正常細胞と癌細胞だけでなく、特にヒト患者から樹立した Glioblastoma の癌幹細胞と一般癌細胞のそれぞれの分画にて、X.m-CRA のウイルス増殖の程度、ならびに殺傷効果を調べた。さらに in vivo 動物モデルでの治療効果の実験も進めた。

癌幹細胞を標的する m-CRA が開発できるかということは非常に重大な意義を持つため、癌幹細胞の特異的標的性に関しては慎重かつ、繰り返しの実験で、最終検証しているところである。但し最終的な治療結果としては、この X.m-CRA は他の m-CRA と比較しても、In vitro 実験だけでなく、in vivo の Xenograft 移植の動物腫瘍モデルでも強力な治療効果を示した。

4) 遺伝子導入・発現ウイルスベクターを使った革新的な癌幹細胞の単離技術を開発している。現在の癌幹細胞の分離濃縮法はマーカー膜蛋白や Sphere 法が中心だが、癌幹細胞同定の特異性が低いこと、単離レベルではない限界がある。候補となる遺伝子プロモーターモリコンビネーションで簡単に交換可能で網羅的解析を可能とし、標的する蛍光蛋白、殺傷遺伝子(異なる 3 種類を用意)も搭載したベクターシステムを作製し、基盤の作製技術は完成して特許出願した。さらに、ベクターに搭載する殺傷遺伝子の機能解析に進み、つまりどの治療遺伝子が癌幹細胞、あるいは正常の幹細胞(未分化)を効率よく殺傷できるか、ということの詳細な実験を進めて来た。また合わせて、癌ならび正常の幹細胞の単離に適切なプロモーターの解析も行った。

5) 癌用に開発したこの m-CRA 技術を、正常の幹

細胞の未分化細胞に殺傷効果を示すか、詳細に調べた。まず、アデノウイルスの感染、導入実験など基本的な技術の改良も行った。次に、癌幹細胞でも問題となるであろう、未分化と分化状態での適切な恒常的強発現プロモーターの選択なども行った。この結果、ES/iPS細胞由来の分化細胞では、正常分化細胞(HDF)と同様にm-CRAによる殺傷効果はほとんど見られず、m-CRAの殺傷効果は未分化細胞に限定されることを実証できた。さらに、残存未分化細胞のモデルとして、未分化多能性幹細胞とHDFを共培養してm-CRAを感染させたところ、未分化細胞のみが選択的に除去できていることを示し、分化誘導後の残存未分化細胞においても効果があることを示唆した。さらに生体内での解析のため、Ex vivoでm-CRAを感染させたヒト多能性幹細胞を免疫不全マウスに移植し、奇形種の形成能の抑制実験を行い、m-CRAが生体での腫瘍形成抑制に著明な効果を示すことを実証できた。

- 6) がん幹細胞を標的とした治療の確立にはがん幹細胞の単離精製が必要であるため、我々は骨軟部悪性腫瘍細胞において、Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3)陽性細胞ががん幹細胞様の性質を持つことを見いだした。

次に、Hedgehogシグナルは正常な幹細胞やがん幹細胞の維持・増殖に関与していることが報告されているので骨軟部肉腫におけるHedgehogシグナルの機能解析を行ってきた。近年になって、かねてより使用されていた抗がん剤であるarsenic trioxide (ATO)にHedgehogシグナル阻害作用があることが報告された。早期の臨床応用のためにATOの骨肉腫細胞に対する効果を検討した。また、欧米で基底細胞がん承認されているHedgehogシグナル阻害薬Vismodegibの効果を検討した。

その結果として、1)ヒト骨肉腫臨床検体・細胞株におけるGLI2の発現が亢進、2)GLI2のknock downで移動能と浸潤能は低下、3)GLI2 knock down骨肉腫細胞株をヌードマウスに移植すると肺転移抑制、4)ATOのin vitroで骨肉腫細胞に投与でGLIの転写活性低下、腫瘍抑制、5)同in vivo動物モデルでATO投与で腫瘍増殖抑制、6)ATO, GANT61, Vismodegibを投与で骨肉腫細胞株の移動能・増殖能が低下、7)ATO, GANT61, Vismodegibの濃度を減らして併用で相乗的に骨肉腫細胞の浸潤能が低下、が得られた。

- 7) がん幹細胞の精製は未だ難しいため、我々は試験管内でグリオブラストーマ(神経膠芽腫、GBM)形成能力を有する

人工がん幹細胞(mGIC)を作製し、その性状解析から治療標的の同定を試みた。まず試験管内で、神経幹細胞(NSC)とオリゴデンドロサイト前駆細胞を起源とするグリオブラストーマ幹細胞(mGIC)の作製に成功した。このmGICは、10個をヌードマウス脳内に移植することによりヒトGBMと同じ病理所見を示す悪性脳腫瘍を形成した(Hide et al, Cancer Res. 2009; Nishide et al, PLoS One 2009; Hide et al, Stem Cells 2011)。

つぎに、新規GICマーカー・治療標的の同定を目的として、GIC腫瘍形成能を関与する新規miRNA群の同定を試みた。その結果として、2種類のmGIC、3種類のhGIC、2種類のヒトGBM細胞株、ヒトとマウスNSCに発現しているmiRNAの網羅的な解析を行い、候補miRNA群を同定した。GBMにおける機能が報告されていないGIC-miRNA1について検討を進めた結果、それが腫瘍抑制因子として機能することを発見した。更に、GIC-miRNA1の標的因子が細胞外マトリックスのリモデリング制御因子であることも明らかにした。これらの結果から、GIC-miRNAの強制発現やその誘導が新規GBM治療法となることを示した。

- 8) 癌と正常の幹細胞の共通点と相違点からの分子機構解明という観点から、iPS細胞の研究も進めている。また、がん幹細胞を標的にした遺伝子治療の実現化には、日本人由来のがん幹細胞株を用いた研究が必要だが、安定したがん幹細胞株の樹立はいまだに困難である。この克服のために、腫瘍細胞のモデルにもなり得るヒトiPSを多くの日本人から樹立することを目指し現在までに約300人分の親知らず由来の歯髓細胞を培養し、凍結保存してきた。この細胞を用いて10以上の日本人細胞からiPS細胞を安定して樹立することに成功した。また、iPS細胞の樹立効率の個人差を基に、新規リプログラミング因子を発見した。

具体的には、DLX4をOCT3/4, SOX2とともに歯髓細胞に導入したところ(OSD)、c-MYC, KLF4無しでもiPS細胞が誘導できるという結果を得た。また、KLF4を加えることによって、さらなる誘導効率の

上昇が観察された。また、遺伝子以外に、リプログラミング処理中の酸素濃度が iPS 細胞の誘導効率に大きく影響すること DPSC を用いて明らかにした。

さらに市販の無血清培地をスクリーニングして、LONZA 社の MSCGM-CD が、歯髄細胞培養に利用できることを明らかにした。そこで、無血清で樹立した歯髄細胞から、ゲノムへの組み込みとそれに伴う発がんリスクの少ないセンダイウイルスベクターを利用した。CytoTune-iPS(DNAVEC)を用いて、iPS 細胞を誘導したところ、十分な数の iPS 細胞クローンを得られ、さらにこれらの iPS 細胞は従来の方法と遜色ない分化能力を示した。

- 9) ウイルスベクターへ結合する糖鎖を同定し、糖鎖固定化ナノ粒子にて、アデノウイルスベクターの高効率かつ簡便な濃縮法を開発している。その最終目的のため、ウイルスベクターへ結合する糖鎖の研究を進めた。

まずウイルスベクターへ結合する糖鎖を同定し、糖鎖固定化ナノ粒子にて、アデノウイルスベクターの高効率かつ簡便な濃縮法を開発している。まず糖鎖または、特異糖鎖へ結合する一本鎖抗体を固定化した蛍光性ナノ粒子の開発を行った。中性糖を固定化した蛍光性ナノ粒子を約 10 種類、また成人 T 細胞白血病患者から樹立した S1T 細胞に特異的に結合する一本鎖抗体 S1TSCFr3-1 を固定化した蛍光性ナノ粒子を調製し、各種培養細胞への結合性を検討した。

さらに半導体金属に直接 His タグの親和性で固定化した scFv-FNP **4b** の S1T 細胞に対する結合性は、細胞への結合性において再現性が得られなかった。scFv-FNP **4a** も同様であった。この結果から、FNP 上の scFv は非特異的に脱着していると考えられる。一方、NTA、ニッケル、His タグを介して固定化した scFv-FNP **5a**、**5b** では、FACS 解析と共焦点顕微鏡による蛍光観察により、再現性よく、S1T 細胞に結合性を示し、非 ATL 細胞である CEM 細胞には結合性を示さなかった。このことから、NTA-ニッケル-His タグ結合を介することによって、強固に FNP 上に固定化されており、また、scFv の方向性も規定されて抗原を認識できていると考えられる。

細胞が癌化すると、その表層の糖鎖構造が変化すること、また細胞には種々の糖鎖が結

合することも知られている。細胞を糖鎖に基づいて簡単に分類・識別することは需要であり、本法により癌細胞の簡便な検査法を確立させ、遺伝子治療をさらに有効なものに発展させる可能性がある。

D . 考察、ならびに E . 結論

本研究の目的は、独自開発の m-CRA (多因子で癌特異化する増殖制御型アデノウイルスベクター) 作製技術を基盤に、独創的な癌幹細胞の同定・標的治療技術の開発であり、さらにこれらの技術を臨床応用に結びつけていくことである。つまり主任研究者の研究室での技術開発を中心に、さらに分担研究者の癌幹細胞や癌悪性化に関するオリジナルの研究成果、さらに正常幹細胞や糖鎖技術といった異分野の分担研究者の技術も融合することで、研究グループとして一体となって上記の研究目的に即した各課題の研究開発を進めて来た。例えば FGFR3 陽性の癌幹細胞への Surv.m-CRA 治療などは、マーカーの発見から治療法確立まで本グループでの連携の成果の実例で、よって全て完全オリジナルでもある。

成果として、第一弾の Surv.m-CRA の医師主導治験を平成 27 年度開始できるように、GMP 製造や非臨床試験等を進めることができた。さらに前述のように、m-CRA 技術での革新的な癌幹細胞治療法開発に繋がる各成果を上げることができた。よって今後は第一弾の Surv.m-CRA の治験で安全性と治療効果を確認するのに加え、癌幹細胞への効果もヒトで検証していきたい。またさらに各技術については、今後も継続発展して研究を進め、実用化に向かいたい。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Yuge K, Takahashi T, Khai NC, Goto K, Fujiwara T, Fujiwara H, Kosai K.: Intramuscular injection of adenoviral hepatocyte growth factor at a distal site ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Int J Mol Med.* 33(5):1064-1074, 2014
2. Tanoue K, Wang Y, Ikeda M, Mitsui K, Irie R, Setoguchi T, Komiyama S, Natsugoe S, Kosai K.: Survivin-responsive conditionally replicating adenovirus kills rhabdomyosarcoma stem cells more efficiently than their progeny. *J Trans Med.* 12:27. doi: 10.1186/1479-5876-12-27, 2014
3. Okabe Y, Takahashi T, Mitsumasa C, Kosai K., Tanaka E, Matsuishi T.: Alterations of Gene Expression and Glutamate Clearance in Astrocytes

Derived from an MeCP2-null Mouse Model of Rett Syndrome. *PLoS ONE* .7(4):e35354, doi: 10.1371/journal.pone.0035354,2012

4. Hino S, Sakamoto A, Nagaoka K, Anan K, Wang Y, Mimasu S, Umehara T, Yokoyama S, Kosai K, and Nakao M.: FAD-dependent lysine-specific demethylase-1 regulates cellular energy expenditure. *Nat. Commun.* 3:758.doi:10.1038/ncomms1755,2012
 5. Horikawa Y, Wang Y, Nagano S, Kamizono J, Ikeda M, Komiya S, Kosai K.:Assessment of an altered E1B promoter on the specificity and potency of triple-regulated conditionally replicating adenoviruses (CRA) ↓Implications for the generation of ideal m-CRAs. *Cancer Gene Ther* 18(10):724-33, 2011
 6. Khai NC, Sakamoto K, Takamatsu H, Matsufuji H, Kosai K .: Recombinant soluble form of HB-EGF protein therapy drastically inhibits Fas-mediated fulminant hepatic failure: Implications in clinical application. *Hepatol Res.* 41(6):594-596, 2011
 7. Kamisasanuki T, Wang Y, Tokushige S, Terasaki H, Khai NC, Wang Y, Sakamoto T, Kosai K; Targeting CD9 produces stimulus-independent antiangiogenic effects predominantly in activated endothelial cells during angiogenesis: A novel antiangiogenic therapy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 413(1):128-35, 2011
 8. Okabe Y, Kusanaga A, Takahashi T, Mitsumasu C, Murai Y, Tanaka E, Higashi H, Matsuishi T, Kosai K.: Neural Development of Methyl-CpG-Binding Protein 2 Null Embryonic Stem Cells: A System for Studying Rett Syndrome. *Brain Res.* 1360: 17-27,2010
 9. Miyata S, Takemura G, Kosai K, Takahashi T, Esaki M, Li L, Kanamori H, Maruyama R, Goto K, Tsujimoto A, Takeyama T, Kawaguchi T, Ohno T, Nishigaki K, Fujiwara T, Fujiwara H, Minatoguchi S.: Anti-Fas Gene Therapy Prevents Doxorubicin-induced Acute Cardiotoxicity through Mechanisms Independent of Apoptosis. *Am J Pathol.* 176(2):687-98, 2010
 10. Wang Y, Asakawa A, Inui A, Kosai K .:Leptin gene therapy in the fight against diabetes. *Expert.Opin.Biol.Ther* 10(10);1405-14, 2010
- 2.学会発表
1. 小賤健一郎: 新しい遺伝子治療ウイルスベクターの開発と基礎・臨床への応用. (国内・ランチョンセミナー) 第 91 回日本生理学会大会、2014 年 3 月 16 日 (鹿児島)
 2. 三井薫、高橋知之、井手佳菜子、小賤健一郎: アデノウイルスベクターでのヒト多能性幹細胞への効率的遺伝子導入技術の開発. (国内・ポスター) 第 13 回日本再生医療学会総会、2014 年 3 月 4-6 日(京都)
 3. 井手佳菜子、三井薫、小賤健一郎: 多能性幹細胞の再生医療応用における新規腫瘍化阻止技術の開発(1)ヒト ES 細胞での検証. (国内・口頭発表) 第 7 回桜ヶ丘地区基礎系研究発表会、2014 年 1 月 16 日 (鹿児島)
 4. 松下洋平、井手佳菜子、三井薫、小賤健一郎: 多能性幹細胞の再生医療応用における新規腫瘍化阻止技術の開発(2)マウス ES 細胞での検証. (国内・口頭発表) 第 7 回桜ヶ丘地区基礎系研究発表会、2014 年 1 月 16 日 (鹿児島)
 5. 小賤健一郎: 癌を標的治療する増殖型アデノウイルスの独自技術開発と臨床応用への展望. 鹿児島がんフォーラム 2013 年 11 月 30 日 (鹿児島)
 6. 宮崎 優美、王 宇清、三井 薫、丁 強、政幸一郎、松原 修一郎、小賤 健一郎、高尾 尊身: Immunohistochemical comparative analysis of the sphere cells of CD133-positive pancreatic cancer cells with iPS cells. CD133+膵がん Sphere 形成細胞と iPS 細胞の免疫組織学的比較解析. 第 72 回日本癌学会学術総会、2013 年 10 月 3-5 日(横浜)
 7. 小賤健一郎: 革新的ながん治療薬(癌だけを殺すウイルス)の開発と臨床応用に向けて. 鹿児島大学公開講座 2013 年 7 月 27 日(鹿児島)
 8. Ken-ichiro Kosai: Development of conditionally replicating adenovirus specifically targeting and/or efficiently treating cancer stem cells. (国内、口演 [English]) 第 71 回日本癌学会学術総会、2012 年 9 月 19-21 日 (札幌)
 9. Kiyonori Tanoue, Yuqing Wang, Takao Setoguchi, Setsuro Komiya, Shoji Natusgoe, Ken-ichiro Kosai .:Survivin-Responsive Conditionally Replicating Adenovirus Efficiently Treats Rhabdomyosarcoma-Initiating Cells. (国内、口演 [Japanese]) 第 71 回日本癌学会学術総会、2012 年 9 月 19-21 日 (札幌)
 10. 小賤健一郎、三井薫、王宇清、高橋知之 . ヒト ES/iPS 細胞での再生医療の課題を克服する独自のアデノウイルスベクターと発現技術の開発 .(国内・パネルディスカッション) 第 11 回日本再生医療学会総会、2012 年 6 月 12-14 日 (横浜)
 11. 田上聖徳、王宇清、池田美奈子、三井薫、瀬戸口啓夫、小宮節郎、夏越祥次、小賤健一郎 .

- 独自開発の増殖型アデノウイルスベクターで癌幹細胞は効果的に治療できる。(国内・ポスター)第11回日本再生医療学会総会、2012年6月12-14日(横浜)
12. 三井薫、井手佳菜子、高山明子、小賤健一郎。増殖型アデノウイルスベクターを用いた安全なヒトES/iPS細胞治療の開発。(国内・口演)第11回日本再生医療学会総会、2012年6月12-14日(横浜)
 13. 小賤健一郎：癌の遺伝子異常を標的とした診断と治療の可能性。(国内・特別講演)第175回日本医学放射線学会九州地方会 2012年6月9-10日(鹿児島)
 14. Tanoue K, Wang Y, Ikeda M, Mitsui K, Setoguchi T, Komiya S, Natsugoe S, Kosai K. : Efficient treatment of Rhabdomyosarcoma-initiating cells by Survivin-responsive conditionally replicating adenovirus : Promising m-CRA strategy for treating cancer stem cells. (国際・ポスター) The American Society of Gene Therapy's 15h Annual Meeting, May 16-May 19, 2012 (Philadelphia, USA)
 15. Sakamoto K, Khai NC, Wang Y, Maezono R, Tanoue K, Matsufuji H, Hideo T, Kosai K.: HB-EGF/HGF HEPATIC GENE THERAPY FOR BILE DUCT LIGATED CHOLESTATIC LIVER INJURY IN MICE: THEIR DIFFERENT AND/OR SYNERGIC THERAPEUTIC EFFECTS. (国内・口演)第17回日本遺伝子治療学会 2011年7月15日-17日(福岡)
 16. Kosai K., Horikawa Y, Wang Y, Nagano S, Kamizono J, Ikeda M, Komiya S.: ASSESSMENT OF AN ALTERED E1B PROMOTER ON THE SPECIFICITY AND POTENCY OF TRIPLE-REGULATED CONDITIONALLY REPLICATING ADENOVIRUSES (CRA): A NEW INSIGHT TO GENERATE IDEAL m-CRAS. (国内・口演)第17回日本遺伝子治療学会 2011年7月15日-17日(福岡)
 17. Kosai K., Sakamoto K, Khai NC, Wang Y, Maezono R, Tanoue K, Hideo T, Matsufuji H.: HB-EGF/HGF Hepatic Gene Therapy Effectively Inhibits Bile Duct Ligated Cholestatic Liver Injury In Mice In Their Different Therapeutic Modes. The American Society of Gene Therapy's 14h Annual Meeting, May 15-May 22, 2011 (Seattle, USA)
 18. 岡部恭典、久佐賀晃、高橋知之、光益千秋、村井恵良、東英穂、松下豊次郎、小賤健一郎、田中永一郎。RTTモデルES細胞由来神経細胞の電気生理学的解析。(国内・シンポジウム)第88回日本生理学会大会、2011年3月28-30日(横浜)
 19. 小賤健一郎、岡部共典、久佐賀晃、高橋知之、光益千秋、村井恵良、田中永一郎、松石豊次郎: MeCP2 遺伝子欠損ES細胞のin vitro文化誘導法による Rett 症候群 / 神経発生の研究システム (国内・口演)第10回日本再生医療学会 2011年3月1-2日(東京)
 20. 坂本浩一、Ngin Cin Khai, 王宇清、前園理恵、高松英夫、松藤凡、小賤健一郎：胆道閉塞性肝疾患へのHB-EGF生体内再生医療(国内・口演)第10回日本再生医療学会 2011年3月1-2日(東京)
 21. 寺崎寛人、上笹貫太郎、徳重沙織、Ngin Cin Khai, Wang Yuqing、坂本泰二、小賤健一郎：膜蛋白CD9の標的治療はGeneralに作用する新規血管新生阻害剤となる(国内・ポスター)第10回日本再生医療学会 2011年3月1-2日(東京)
 22. Yoshiharu Horikawa, Ken-ichiro Kosai. Improved survivin-responsive m-CRA for efficient and safer cancer therapy: A new rule of E1B promoter replacement. (国内・ポスター発表)第69回日本癌学会学術総会、2010年9月22-24日(大阪)
 23. 上笹貫太郎、徳重沙織、坂本泰二、小賤健一郎。膜蛋白CD9標的RNAiはGeneralに作用する新たな血管新生阻害剤となる。(国内・ポスター発表)第114回日本眼科学会総会、2010年4月15-18日

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許出願・取得

1. 幹細胞における腫瘍化原因細胞の新たな標識法と治療法
発明者：小賤健一郎、三井薫、井手佳菜子
出願人：鹿児島大学
国内出願：2014年1月14日
(特願 2014-004262)
2. シノビオリンプロモーターを含む増殖制御型ウイルスベクター
発明者：小賤健一郎
出願人：鹿児島大学

- 国内出願：2012年8月23日
(特願 2012-184651)
3. ヒト ES/iPS 細胞における遺伝子発現方法
発明者：小賤健一郎、三井薫、高橋知之
出願人：鹿児島大学、久留米大学
国内出願：2012年5月23日
(特願 2012-117128)
4. 癌幹細胞を標的とするウイルスベクター
発明者：小賤健一郎、王宇清
出願人：鹿児島大学
国内出願：2011年3月25日
(特願 2011-068530)
国際出願：2012年3月23日
(PCT/JP2012/002031)
米国出願：2013年9月24日(US 14/007,227)
5. Aurora キナーゼプロモーターを含む増殖制御型ウイルスベクター
発明者：小賤健一郎
出願人：鹿児島大学
国内出願：2010年9月30日
(特願 2010-223150)
国際出願：2011年9月29日
(PCT/JP2011/72357)
米国出願：2013年7月5日(US 13/876,916)
6. サービピンプロモーターを含む増殖制御型ウイルスベクターによる造血管腫瘍の遺伝子治療
【国内】
発明者：小賤健一郎、有馬直道、鈴木紳介
出願人：鹿児島大学
出願日：2010年3月25日(特願 2010-070942)
【国際】
発明者：小賤健一郎、有馬直道、鈴木紳介
出願人：有馬直道、鈴木紳介(全て)、小賤健一郎(USのみ)
出願日：2011年3月25日
(PCT/JP2011/57477)
7. 幹細胞における腫瘍化原因細胞の除去方法
発明者：小賤健一郎、三井薫
出願人：鹿児島大学
国内出願：2011年3月29日
(特願 2011-073690)
国際出願：2012年3月29日
(PCT/JP/2012/58414)
8. 血管新生抑制剤
発明者：小賤健一郎、坂本泰二、上笹貴太郎
出願人：鹿児島大学
国内出願：2009年4月23日
(特願 2009-105170)
国際出願：2010年4月19日
(PCT/JP2010/057735)
JST 特許支援事業に採択
9. サービピン(Survivin)プロモーターを含む増殖型ベクターを有効成分とする医薬
発明者：小賤健一郎、神園純一、永野聡
出願人：小賤健一郎
国内出願：2004年5月25日
(特願 2004-154431)
国際出願：2005年5月23日
(PCT/JP2005/009818)
【米国特許取得】2012年3月27日
(特許番号：US 8,142,770 B2)
10. Drug Comprising As The Active Ingredient Proliferative Vector Containing Survivin Promoter
発明者：小賤健一郎、神園純一、永野聡
出願人：小賤健一郎
【米国特許取得】(特許証発行中)
米国出願：2012年3月21日(US 13/426,048)
【米国特許取得】2014年4月29日
(特許番号：US 8,709,812)
11. CD9 遺伝子からなる心疾患を予防又は治療する医薬
発明者：小賤健一郎、牛越博昭
出願人：財団法人 名古屋産業科学研究所
(中部 TLO)
国内出願：2003年12月26日
(特願 2003-432279)
国際出願：2004年12月24日
(PCT/JP2004/019774)
【国内特許取得】2011年5月13日
(特許第 4736088 号)
【米国特許取得】2010年9月28日
(特許番号：US 7,803,780)
【欧州特許取得】2011年2月9日
(特許番号：EP 1716869)
12. 増殖制御型組換えアデノウイルスベクターの効率的な作製方法及びその作製用キット
発明者：小賤健一郎、永野聡
出願人：小賤健一郎(国内)；財団法人 名古屋産業科学研究所(中部 TLO)(米、欧)
国内出願：2003年7月31日
(特願 2003-283427)
【国内特許取得】2010年3月26日
(特許第 4478775 号)
国際出願：2004年7月26日
(PCT/JP2004/010998)
【米国特許取得】2011年10月11日
(特許番号：US 8,034,589 B2)
【欧州特許取得】2013年11月20日
(特許番号：EP 1662004)
JST 特許支援事業(採択)により欧州に指定国移行中

13. 胚性幹細胞から分化した目的細胞の選別的単離又は可視化方法及び単離又は可視化用キット

発明者：小戾健一郎、高橋知之

出願人：小戾健一郎

国内出願：2003年6月13日

(特願 2004-513486)

【国内特許取得】2010年11月12日

(特許第 4624100 号)

国際出願：2003年6月13日

(PCT/JP03/07536)

2. 実用新案登録

3. その他