

- Oba, K. Miyata, K. Osada, N. Nishiyama, K. Kataoka, Three-layered polyplex micelle as a multifunctional nanocarrier platform for light-induced systemic gene transfer. *Nat. Commun.* 5 3545 (2014)
- 23) F. Pittella, H. Cabral, Y. Maeda, P. Mi, S. Watanabe, H. Takemoto, H. -J. Kim, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka, Systemic siRNA delivery to a spontaneous pancreatic tumor model in transgenic mice by PEGylated calcium phosphate hybrid micelles. *J. Control. Release* 178 18-24 (2014)
2. 学会発表
- 1) K. Kataoka, Block copolymer micelles as smart nano carriers for targeted drug delivery, 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014 (PSWC), 2014.04.16, Melbourne, Australia, 基調講演
 - 2) K. Kataoka, Block copolymer micelles as smart nanocarriers for targeted drug delivery, CACO-PBSS Cancer Nanotherapeutics Workshop, 2014.04.23, Crowne Plaza Hotel, Foster City, California, USA, 招待講演
 - 3) K. Kataoka, Block copolymer micelles as smart nanocarriers for targeted drug delivery, Seminar at Eshelman School of Pharmacy, University of North Carolina, 2014.04.25, University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, USA, 招待講演
 - 4) 片岡一則, 未来の医療を変えるナノDDS～あらゆる微小空間で生体機能をコントロールする革新技術の創製～, 2014 年度グレーター東大塾 超高齢社会日本を支える医療技術と社会システム, 2014.05.14, 東京大学伊藤国際研究センター 中教室 文京区 東京都, 招待講演
 - 5) 片岡一則, 高分子ナノテクノロジーによる標的指向型創薬, 第 55 回日本神経学会学術大会, 2014.05.21, 福岡国際会議場・福岡サンパレス・福岡国際センター 福岡市 福岡県, 招待講演
 - 6) 片岡一則, ナノマテリアルから拡がる医療イノベーション- 高分子ミセルによるがんの標的治療 - 第 41 回日本毒性学会学術年会, 2014.07.02, 神戸コンベンションセンター 神戸市 兵庫県, 特別講演
 - 7) K. Kataoka, Nanomaterials as 'the magic bullet' to eradicate cancer, The 15th Anniversary Symposium of Science and Technology of Advanced Materials, 2014.07.03, Sanjo Conference Hall, Bunkyo, Tokyo, 招待講演
 - 8) K. Kataoka, Targeted chemo- and molecular-therapy by self-assembled supramolecular nanosystems from functionalized block copolymers, NanoBio Australia 2014 5th International NanoBio Conference & 3rd International Conference on BioNano Innovation (ICBNI), 2014.07.08, The University of Queensland, Brisbane, Australia, 招待講演
 - 9) 片岡一則, スマートライフケア社会への変革を先導するナノバイオテクノロジー～あらゆる微小空間で生体機能をコントロールする革新技術の創製～, 実験動物中央研究所平成 26 年度(第 33 回)学術懇話会, 2014.07.24, 学士会館 千代田区 東京都, 招待講演
 - 10) K. Kataoka, Targeted chemo- and molecular-therapy by self-assembled supramolecular nanosystems from functionalized block copolymers, ISACS15 Challenges in Nanoscience, 2014.08.18, University of California, San Diego Price Center, San Diego, California, USA, 総会講演
 - 11) 片岡一則, 未来の医療を変えるナノDDS～あらゆる微小空間で生体機能をコントロールする革新技術の創製～, 東大柏ベンチャープラザ 10 周年記念, 2014.09.04, 東京大学柏の葉キャンパス駅前サテライト 柏市 千葉県, 招待講演
 - 12) K. Kataoka, Block copolymer micelles as smart nanosystems for targeted drug delivery, MGH-UTokyo Symposium 2014 "Frontiers in Biomedical Engineering", 2014.09.24,, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts, USA, 招待講演
 - 13) 片岡一則, スマートライフケア社会への変革を先導するナノバイオテク

- ノロジー～あらゆる微小空間で生体機能をコントロールする革新技術の創製～, 三井業最研究所 第16回最先端材料技術調査研究委員会, 2014.09.30, 川崎生命科学・環境研究センター 川崎市 神奈川県, 招待講演
- 14) K. Kataoka, Block copolymer micelles as smart nanosystems for targeted drug delivery, 11th France-Japan DDS Symposium “Recent Achievements and Further Challenges in Drug Delivery Research”, 2014.10.08, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, Japan, 招待講演
- 15) K. Kataoka, Smart targeted therapy by self-assembled supramolecular nanosystems, JSPS A3 Foresight International Symposium on Nano-Biomaterials and Regenerative Medicine, 2014.10.09, Tokyo Women's Medical University, Shinjuku, Tokyo, 招待講演
- 16) 片岡一則, 超分子ナノマシンによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, 第79回日本泌尿器科学会東部総会, 2014.10.14, パシフィコ横浜 横浜市 神奈川県, 教育講演
- 17) 片岡一則, ナノテクノロジーで創る魔法の弾丸～がんの標的治療への挑戦～, 第42回日本潰瘍学会, 2014.11.01, 慶応義塾大学芝共立キャンパス 港区 東京都, 特別講演
- 18) K. Kataoka, Nanotechnology to develop “the magic bullet” for targeted cancer therapy, 27th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC 2014), 2014.11.05, Hilton Fukuoka Sea Hawk, Fukuoka, Fukuoka, 招待講演
- 19) 片岡一則, Smart targeted therapy by self-assembled supramolecular nanosystems, 第30回(2014)京都賞記念ワークショップ先端技術部門「バイオマテリアル研究の最前線」/The 2014 Kyoto Prize Workshop in Advanced Technology, 2014.11.12, 国立京都国際会館 京都市 京都府 /Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan, 招待講演
- 20) K. Kataoka, Targeted chemo- and molecular-therapy by self-assembled supramolecular nanomedicines, The 10th International Polymer Conference IPC2014, 2014.12.04, International Congress Center, Tsukuba, Ibaraki, 招待講演
- 21) 片岡一則, 高分子ミセル医薬: その特徴と将来展望, 日本 DDS 学会創立 30 周年シンポジウム, 2014.12.15, 東京ガーデンパレス 文京区 東京都, 招待講演
- 22) K. Kataoka, Block copolymer micelles as smart nanosystems for drug targeting, The 1st International Symposium on Translational Nanomedicine, 2015.01.09, Sun Yat-Sen University (SYSU), Guangzhou, China, 基調講演
- 23) 片岡一則, ナノ DDS 技術による均質・高付加価値な難病治療・再生医療の実現, 第3回国際先端生物学・医学・工学会議 (ICIBME 2015), 2015.01.15, 名古屋大学 豊田講堂シンポジオン 名古屋市、愛知県, 基調講演
- 24) 片岡一則, 未来の医療を変えるナノ DDS ～あらゆる微小空間で生体機能をコントロールする革新技術の創製～, 新春特別講演会「未踏科学技術 2015」, 2015.01.20, 公益財団法人日本化学会化学会館 千代田区 東京都, 招待講演

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- 1.特許取得
特になし
- 2.実用新案登録
特になし
- 3.その他
特になし

ユニットポリイオンコンプレックス型核酸キャリアーの製造と特性解析
担当責任者 西山伸宏 東京工業大学 資源化学研究所 教授

研究要旨

本事業では、PRDM14 キメラ型 RNAi を合成高分子を主成分とする送達システムに搭載し、医師主導治験を行うことを目指している。送達システムとしては、siRNA 分子と分岐状ポリエチレングリコール-カチオン性ポリアミノ酸ブロック共重合体 2 分子の自己組織化によって形成されるユニットポリイオンコンプレックス(ユニット PIC)について研究を行っており、これまでに優れた血中滞留性、固形がんへの特異的集積性、siRNA のデリバリーに基づく抗腫瘍効果が確認されてきた。本分担研究では、本年度において、ユニット PIC を構築するための PEGasus-poly(L-オルニチン)(PEG-POrn)の合成法の検討と得られたポリマーの品質特性解析を実施した。

A. 研究背景、目的
(背景)

siRNAは、細胞内の標的mRNAを特異的かつ効率的にノックダウンできることから、疾患治療への応用が期待されている。従来の低分子薬、抗体医薬と比較して、あらゆる疾患に対して配列から容易に設計でき、副作用が少なく、かつ製造コストの抑制や期間の短縮も可能であることから、siRNAは次世代医薬品シーズとして大きな可能性を秘めている。しかしながら、核酸医薬には、1)生体内安定性に乏しく容易に分解される、2)血中に投与した場合、速やかに腎臓から排泄される、3)分子量が大きく親水性であるために細胞内への移行性が低い等の解決すべき課題が存在することが知られており、実用化のためにはsiRNAの送達システムの開発が必要不可欠である。実際に、siRNAの臨床試験においては局所投与が可能な眼科疾患等を除いて、何らかのDDS技術が利用されている(*Nature Mater.* 12: 967(2013))。

siRNA の送達システムは、カチオン性脂質を利用したリポブレンクス型とカチオン性高分子を利用したポリブレンクス型に大別され、ウイルス等の生物由来のシステムと比較して、安全性、コスト、製造容易性などにおいて優れている。しかしながら、これらのシステムは、デリバリーが比較的容易な肝臓を標的とした一部のシステムが臨床試験へと進んでいるものの、実用化にはまだ遠く、固形がんを標的とした場合には、生体内における安定性およびがん組織への集積性の向上が必要である。さらに、製剤面からは、siRNA 送達システムは、複雑な製造プロセスを要さず、簡便でかつ再現良く調製できることも重要である。

このような背景において、東京大学の片岡と東京工業大学の西山は、ポリエチレングリコール-poly(L-lysine)(PEG-PLys)ブロック共重合体と siRNA のポリイオンコンプレックス(PIC)に基づく siRNA 送達システムに関する研究を行ってきた。その結果、分岐状のポリエチレングリコール(PEGasus)を有する PEGasus-PLys に関して PLys と siRNA の鎖長のマッチングを検討したところ、1 分子の siRNA に対して 2 分子の PEGasus-PLys が会合したユニット PIC が形成されることを見出した(図 1)。ユニット PIC は、明確な構造を有し、製造も容易であることから製剤面で大きな利点を有している。また、これまでに優れた血中滞留性を示し、固形がんにも効果的に集積することが確認された。さらに、ユニット PIC は、膵臓がんモデルに対して優れた組織浸透性を示し、siRNA のデリバリーに基づく治療効果を示すことも確認されている。

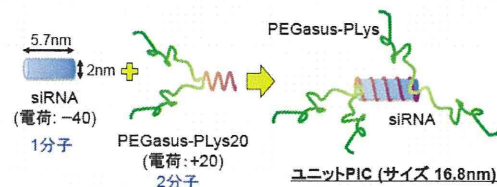


図1. ユニットPICの模式図

本事業では、PRDM14 キメラ型 RNAi をユニット PIC に搭載し、医師主導治験を行うことを目指している。本分担研究では、本年度において、ユニット PIC の構築のための新たなポリマーとして PEGasus-poly(L-オルニチン)(PEG-POrn)を合成し、得られたポリマーの品質特性解析を行った。また、ユニット PIC は、高分子量の PEG を有することから組織集積性

を詳細に検討する必要がある。そこで本年度は、そのための予備検討を開始した。

(倫理面への配慮)

本研究成果における動物実験に関しては、事前に動物実験計画書を提出し、東京工業大学の動物実験委員会による承認を得た上で実施した。動物実験を行うすべての者は、大学主催の動物実験教育訓練を受講し、認定を受けた上で、「動物の保護および管理に関する法律」などに従い、動物愛護の観点に十分に配慮した上で実験を行っている。

B. 研究方法

1) PEGasus-POrn の合成

PEG-POrn の合成は、既報の PEG-PLys の合成(*Macromol. Rapid Commun.* 2010, 31, 1181-1186)と同様の方法で行った。具体的には、PEGasus-NH₂ とチオウレアをフラスコ中で減圧乾燥し、Ar に置換した後に、DMF に溶解した。その後、 γ -アミノ基を TFA 基で保護したオルニチン(Orn)-N カルボン酸無水物(NCA)を秤取り、DMF に溶解した後に、上記の PEGasus を溶解した DMF と混合することによって、NCA の開環重合を行った(Ar 下 25°C)。赤外線吸収スペクトルによって 1790cm⁻¹ の NCA に由来するピークの消失を確認した後に、MeOH を少量添加し、エーテルに対して再沈殿を行った。この得られたポリマーを減圧乾燥することによって、アミノ基が TFA 基で保護された PEGasus-POrn(TFA)を得た。次に、PEGasus-POrn(TFA)を MeOH に溶解し、1N NaOH 中で室温にて終夜攪拌することで TFA 基を脱保護した。その後、0.01N HCl で中和し、純粋に対して透析を行った後に、凍結乾燥を行うことにより目的とする PEGasus-POrn を合成した(図 2)。

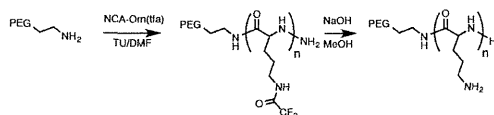


図 2. PEGasus-POrn の合成スキーム

2) PEGasus-POrn の品質特性解析

合成した PEGasus-POrn の異なる pH 環境

における安定性を評価した。具体的には、酢酸緩衝液(pH4.8)、リン酸緩衝液(pH7.4)、炭酸ナトリウム緩衝液(pH8.5)中にポリマーを長期間(day 28 まで)保存し、ポリマーの分子量を GPC によって評価した。

次に、一方、PMDA との事前相談において、ICH S10 に従い、ユニット PIC の光毒性を調べるように指示を受けたため、本研究では PEGasus-POrn の UV-可視光吸収スペクトルの測定を行った。

3) ユニット PIC の組織学的評価

ユニット PIC は、構成する PEGasus-POrn に排泄が極めて遅い高分子量の PEG を使用しているために、その組織集積性を評価する必要がある。本年度は、この評価に向けて、オールインワン蛍光顕微鏡システム(キーエンス社 BZ-X700)を導入し、実験条件の検討を開始した。

C. 研究結果

1) PEGasus-POrn の合成

PEGasus-NH₂ を開始剤として、Orn(tfa)-NCA を開環重合した場合の実際の POrn の重合度を評価した結果を図 3 に示す。この結果より、NCA は定量的には重合しないが、仕込み量に比例して、POrn 重合度が大きくなることが確認された。

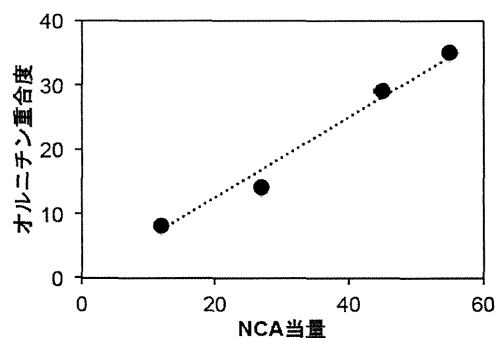


図 3. PEGasus-POrn の合成における NCA 仕込み量と POrn 重合度の関係

合成した PEGasus-POrn の ¹H-NMR と GPC を図 4、5 に示した。このように、PEGasus-NH₂ は直鎖の PEG-NH₂ や分子量の小さい PEGasus-NH₂ と比較して、重合開始点であるアミノ基が立体的に込み合った位置に存在しており、イニシエーターとしての活性が低いこ

とが予想されたが、目的とする PEGasus-POrn、特に POrn 重合度が 20 のポリマーは問題なく合成可能であることが確認された。

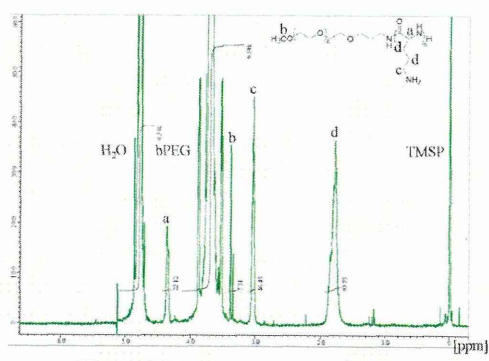


図 4. PEGasus-POrn の ¹H-NMR

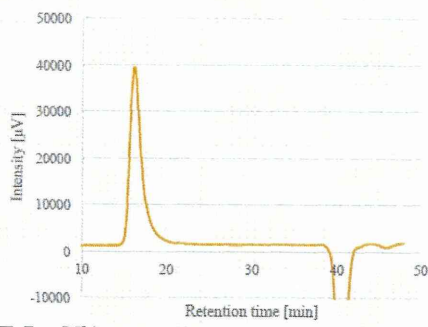


図 5. PEGasus-POrn の GPC チャート

2) PEGasus-POrn の品質特性解析

合成した PEGasus-POrn の異なる pH 環境における安定性を評価した(図 6A)。その結果、炭酸ナトリウム緩衝液(pH8.5)中で、day オーダーのゆっくりとした分解挙動が確認された。一方、酢酸緩衝液(pH4.8)、リン酸緩衝液(pH7.4)中では、炭酸ナトリウム緩衝液で見られる顕著な分解挙動は確認されなかったが、GPC のピークのテーリングが確認された(図 6B,C)。そこで、温度を 4℃に設定し、リン酸緩衝液(pH7.4)中における PEGasus-POrn の分解挙動を評価したところ、28 日後においても GPC チャートに変化は見られなかった(図 6D)。以上の結果より、PEGasus-POrn は 4℃の PBS 中では非常に安定であるものと考えられる。

次に、PEGasus-POrn の光毒性を調べるために、200nm から 800nm の範囲で UV-可視光吸収スペクトルを測定した(図 7)。その結果、

PEGasus-POrn は 250nm に吸収帯を持たないことが確認された。PEGasus-POrn は、光増感作用や蛍光を示す官能基を持たないことから、PEGasus-POrn は光に対して極めて安定であり、光毒性を示さないものと考えられる。

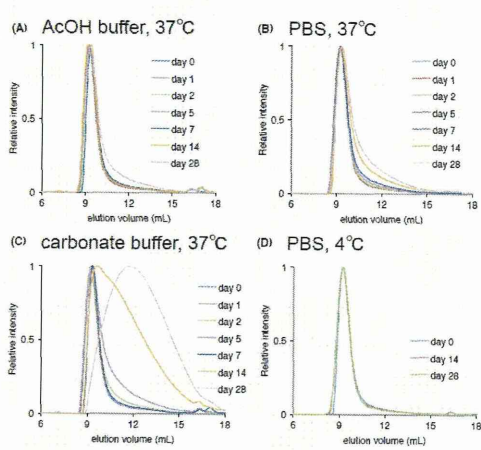


図 6. PEGasus-POrn の異なる pH 環境下における安定性

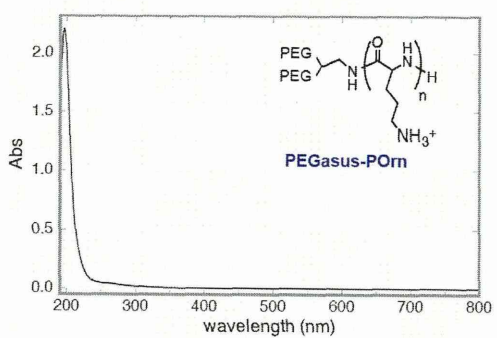


図 7. PEGasus-POrn の UV-可視光吸収スペクトル

3) ユニット PIC の組織学的評価

ユニット PIC の組織集積性の評価に向けて組織切片を作成し、オールインワン蛍光顕微鏡システムにより観察を行う予備検討を開始した。具体的なデータは次年度以降に示す予定である。

D. 考察

本年度は、分担研究者の片岡と連携し、PEGasus-ポリカチオンのカチオン構造の最適化を行い、PEGasus-POrn が従来の PEGasus-PLys と比較して、より少ないポリマー投与量で同等以上の血中滞留性と抗腫瘍

効果を示すことを確認した。PEGasus-POrnの合成に関しては、PEGasus-NH₂のイニシエーターとしての活性が低いことが予想されたが、NCAの仕込み量に比例して、POrn重合度が大きくなることが確認された(図3)。PEG-NH₂を開始剤としたアミノ酸NCAの開環重合によるPEG-ポリアミノ酸ブロック共重合体の合成は既にGMPグレードでの大量合成法が確立されているが、PEGasus-POrnも同様な合成法が可能であると考えられる。

一方、ユニットPICの医薬品としての品質特性に関しては、PEGasus-POrnがアルカリ条件で長期間溶液保存すると徐々にポリマーが分解することが分かった(図6)。PEGasus-POrnは、4°CのPBS中では極めて安定であることが確認できており、ユニットPICを水溶液中で取り扱う際には、温度とpHに注意を要するものと思われる。また、PMDAとの事前相談において指摘を受けた薬剤の光安定性に関しては(ICH S10参照)、PEGasus-POrnのUV-可視光吸収スペクトルを測定したところ、250nmに吸収帯を持たないことが確認された。PEGasus-POrnは、光増感作用や蛍光を示す官能基を持たないことから、このポリマーは光に対して安定であり、光毒性を示さないものと思われる。

以上の結果により、本研究の今後の計画においては、PEGasus-POrnをユニットPICの調製に用いるポリマーとして(非臨床試験を含めた)開発を進めていく予定である。このGMPでのポリマー製造に向けた予備検討は、既に日油(株)と開始している。

E. 結論

本年度は、ユニットPICを構築するためのPEGasus-poly(L-オルニチン)(PEG-POrn)の合成法を確立し、得られたポリマーの品質特性解析を実施した。今後は、PEGasus-POrnを非臨床試験を含めた開発ステージへと進めていく予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) J. -Y. Ahn, Y. Miura, N. Yamada, T. Chida, X. Liu, A. Kim, R. Sato, R. Tsumura, Y. Koga, M. Yasunaga, N. Nishiyama, Y. Matsumura, H. Cabral, K. Kataoka, Antibody fragment-conjugated

polymeric micelles incorporating platinum drugs for targeted therapy of pancreatic cancer. *Biomaterials* 39 23-30 (2015)

- 2) H.-C. Yen, H. Cabral, P. Mi, K. Toh, Y. Matsumoto, X. Liu, H. Koori, A. Kim, K. Miyazaki, Y. Miura, N. Nishiyama, K. Kataoka, Light-induced cytosolic activation of reduction-sensitive camptothecin-loaded polymeric micelles for spatiotemporally controlled in vivo chemotherapy. *ACS Nano* 8 (11) 11591-11602 (2014)
- 3) H. -J. Kim, H. Takemoto, Y. Yi, M. Zheng, Y. Maeda, H. Chaya, K. Hayashi, P. Mi, F. Pittella, R. J. Christie, K. Toh, Y. Matsumoto, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka, Precise engineering of siRNA delivery vehicles to tumors using polyion complexes and gold nanoparticles. *ACS Nano* 8 (9) 8979-8991 (2014)
- 4) H. Wu, H. Cabral, K. Toh, P. Mi, Y.-C. Chen, Y. Matsumoto, N. Yamada, X. Liu, H. Kinoh, Y. Miura, M. R. Kano, H. Nishihara, N. Nishiyama, K. Kataoka, Polymeric micelles loaded with platinum anticancer drugs target preangiogenic micrometastatic niches associated with inflammation. *J. Control. Release* 189 1-10 (2014)
- 5) H. Uchida, K. Itaka, T. Nomoto, T. Ishii, T. Suma, M. Ikegami, K. Miyata, M. Oba, N. Nishiyama, K. Kataoka, Modulated protonation of side chain aminoethylene repeats in N-substituted polyaspartamides promotes mRNA transfection. *J. Am. Chem. Soc.* 136 (35) 12396-12405 (2014)
- 6) Y. Oe, R. J. Christie, M. Naito, S. A. Low, S. Fukushima, K. Toh, Y. Miura, Y. Matsumoto, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka, Actively-targeted polyion complex micelles stabilized by cholesterol and disulfide cross-linking for systemic delivery of siRNA to solid tumors. *Biomaterials* 35 27 7887-7895 (2014)
- 7) S. Quader, H. Cabral, Y. Mochida, T. Ishii, X. Liu, K. Toh, H. Kinoh, Y. Miura, N. Nishiyama, K. Kataoka, Selective intracellular delivery of proteasome inhibitors through pH-sensitive polymeric micelles directed to efficient

- antitumor therapy. *J. Control. Release* 188 67-77 (2014)
- 8) Y. Mochida, H. Cabral, Y. Miura, F. Albertini, S. Fukushima, K. Osada, N. Nishiyama, K. Kataoka, Bundled assembly of helical nanostructures in polymeric micelles loaded with platinum drugs enhancing therapeutic efficiency against pancreatic tumor. *ACS Nano* 8 (7) 6724-6738 (2014)
 - 9) Y. Maeda, F. Pittella, T. Nomoto, H. Takemoto, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka, Fine-tuning of charge-conversion polymer structure for efficient endosomal escape of siRNA-loaded calcium phosphate hybrid micelles. *Macromol. Rapid Commun.* 35 13 1211-1215 (2014)
 - 10) L. Nuhn, S. Gietzen, K. Mohr, K. Fischer, K. Toh, K. Miyata, Y. Matsumoto, K. Kataoka, M. Schmidt, R. Zentel, Aggregation behavior of cationic nanohydrogel particles in human blood serum. *Biomacromolecules* 15 (4) 1526-1533 (2014)
 - 11) H. -J. Kim, K. Miyata, T. Nomoto, M. Zheng, A. Kim, X. Liu, H. Cabral, R. J. Christie, N. Nishiyama, K. Kataoka, siRNA delivery from triblock copolymer micelles with spatially-ordered compartments of PEG shell, siRNA-loaded intermediate layer, and hydrophobic core. *Biomaterials* 35 (15) 4548-4556 (2014)
 - 12) T. Nomoto, S. Fukushima, M. Kumagai, K. Machitani, Arnida, Y. Matsumoto, M. Oba, K. Miyata, K. Osada, N. Nishiyama, K. Kataoka, Three-layered polyplex micelle as a multifunctional nanocarrier platform for light-induced systemic gene transfer. *Nat. Commun.* 5 3545 (2014)
 - 13) F. Pittella, H. Cabral, Y. Maeda, P. Mi, S. Watanabe, H. Takemoto, H. -J. Kim, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka, Systemic siRNA delivery to a spontaneous pancreatic tumor model in transgenic mice by PEGylated calcium phosphate hybrid micelles. *J. Control. Release* 178 18-24 (2014)
- を目指したケミカルバイオフォトニクス技術第 87 回日本生化学会大会 (2014 年 10 月 15 日-18 日), 京都国際会館, 京都 2014 年 10 月 17 日(シンポジスト)
- 2) 西山伸宏, "高分子ミセル型ナノ医薬品の研究開発", 新製剤技術とエンジニアリングを考える会 第 12 回技術講演会, 京都国際会館, 京都 2014 年 7 月 16 日(招待講演)
 - 3) N. Nishiyama, "Biological functionalities of polymeric micelle systems for targeting cancer", The European Summit for Clinical Nanomedicine 2014 (6th CLINAM 2014) (23-25 June), Congress Center Basel, Basel, Switzerland, June 23, 2014 (Invited Lecture)
 - 4) 西山伸宏, "高分子ナノテクノロジーを基盤とするナノ医薬品の開発", 第 10 回つくばがん遺伝子治療研究会, ステーションコンファレンス東京, 東京 2014 年 6 月 20 日(招待講演)
 - 5) 西山伸宏, "がんの診断・治療のための高分子ミセル型 DDS の開発", 日本病院薬剤師会東北ブロック第 4 回学術大会 (2014 年 5 月 31 日-6 月 1 日), 仙台国際センター, 仙台 2014 年 5 月 31 日(シンポジスト)
 - 6) N. Nishiyama, "Development of supramolecular nanocarriers for cancer diagnosis and therapy", Emerging Biomaterials 2014 (23 May), KAIST Institute, Korea, May 23, 2014 (Invited Lecture)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
- 1.特許取得
特になし
 - 2.実用新案登録
特になし
 - 3.その他
特になし

2. 学会発表

- 1) 西山伸宏, "生体イメージングを活用したナノ DDS 設計", 3S05a 疾患克服

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
分担研究報告書

医師主導治験の準備・計画

岩瀬 哲 東京大学医科学研究所 特任講師

研究要旨：

医師主導治験では、担当医師が臨床試験のために十分なエフォートを割くことが難しく、プロトコール審査委員会や独立データ・モニタリング委員会が迅速に機能にせずデータマネージメント機能が低下、データの品質管理が難しいといった問題点が指摘されている。当研究班では、治験プロトコールを作成する段階から臨床試験症例登録システムを構築し、これらを十分に機能させて質の高いエビデンスが創出でき臨床研究体制を整えた。

A. 研究目的

臨床試験症例登録システムの構築

26年度の医師主導治験の準備・計画の目標を達成することができた。

B. 研究方法

臨床試験症例登録システムは、患者登録予定の病棟（外科/緩和医療科病棟）のスタッフ内にCRC(Clinical Research Coordinator)と連動するCRN(Clinical Research Nurse)を設置して、試験に参加する患者のケアにフォーカスを置き、ケアが行われる状況の範囲で医師主導治験が支援される病棟体制を構築した。

C. 研究結果

平成27年度から開始される第1相試験の臨床試験症例登録システムを構築した。

D. 考察

本研究では医師主導治験の登録から終了まで、病棟スタッフの中にCRNを置き、CRNとCRCが連動することで、最短の症例集積と質の高いデータ管理が可能となるような症例登録システムを構築した。平成27年度からは第1相試験の登録が開始される予定であり、必要があればシステムを改良して治験データの品質管理を行っていく。

E. 結論

平成27年度から開始される第1相試験の臨床試験症例登録システムを構築し、平成

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ishiki H, Iwase S, Gyouda Y, Kanai Y, Ariyoshi K, Chinzei M, Yamaguchi T. Oral Nutritional Support Can Shorten the Duration of Parenteral Hydration in End-of-Life Cancer Patients: A Randomized Controlled Trial. *Nutr Cancer*. in press. (2014).

2. Kawaguchi T, Azuma K, Yamaguchi T, Iwase S, Matsunaga T, Yamada K, Miyamatsu H, Takeuchi H, Kohno N, Akashi T, Unezaki S. Preferences for pharmacist counselling in patients with breast cancer: a discrete choice experiment. *Biol Pharm Bull*. 37(11):1795-1802 (2014).

3. Kobayashi R, Shiraishi K, Iwase S, Ohtomo K, Nakagawa K. Omission of axillary lymph node dissection for clinically node negative early-stage breast cancer patients. *Breast Cancer*. Published online. (2014).

4. Ito T, Hanafusa N, Fukui M, Hiroko Yamamoto, Watanabe Y, Noiri E, Iwase S, Miyagawa K, Fujita T, and Nangaku M. Single center experience of cell-free

and concentrated ascites reinfusion
therapy in malignancy related ascites.
*Therapeutic Apheresis and
Dialysis*. 18(1):87-92 (2014).

2. 学会発表
第 19 回日本緩和医療学会総会
平成 26 年 6 月 20 日 (神戸)

ポスター発表
(課題名) がん患者の倦怠感、疼痛、QOL
に関する観察研究

G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

RNA 干渉を利用した核酸医薬開発における臨床試験の概要

野島正寛 東京大学医科学研究所

研究要旨

本検討は、抗腫瘍効果を目的とし、RNA 干渉を利用した核酸医薬の臨床試験に関する文献をレビューし、今後の開発において有用な知見を得ることを目的とした。11 の文献を検討したところ、悪性腫瘍の場合を除いて重篤な有害事象の発現頻度は低く、経静脈的投与の際の用量は概ね数 mg から 100 mg 程度となっていたが、かなり細かく用量の設定がなされており、1 群が 3 名程度であっても試験参加者数は 30 名以上となっている場合が多い。徐々に用法・用量および安全性に関するデータが蓄積されており、今後より効率的な臨床試験の計画が可能となることが期待される。

A. 研究目的

核酸医薬は、細胞内の疾患原性をもたらす核酸、すなわち、遺伝子もしくは遺伝子転写産物等をターゲットとしており、従来の薬剤とは全く異なった挙動を示す。特に、RNA 干渉を利用する場合は、RNA の不安定性などから、ドラッグデリバリーを担うナノキャリアー等を含んだ評価を行う必要があるという点も独特である。革新的治療の開発においては、用量設定や予想される副作用なども古典的な方法論では対応できない場合もあり、過去の類似医薬品開発を参考にしながら、各々の開発薬剤に対応した改変が必要となる。本検討では、抗腫瘍効果を目的とし、RNA 干渉を利用した核酸医薬の臨床試験に関する文献をレビューし、今後の開発において有用な知見、特に試験デザインに関する知見を得ることを目的とする。

B. 研究方法

文献検索サイトである Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) を利用し、“RNA”, “interference” の 2 単語の and 検索を行った後、Clinical trial のフィルターを適用し、RNA 干渉を利用した核酸医薬開発を目的とした臨床試験に関する文献を抽出した。検討項目は、対象疾患、対象者、標的遺伝子、重篤な有害事象、設定された用法・用量およびその単位、割り付け、対象者数等となっている。

C. 研究結果

検索の結果、11 の文献が研究対象として抽出された（文献 1-11）。対象疾患の概要は以下の通りである。

【対象疾患】

悪性腫瘍：2（いずれも原発臓器を問わない）

眼科疾患：緑内障 1, 加齢黄斑変性 2

呼吸器感染症：3

高脂血症：1

アミロイドーシス：1

慢性 B 型肝炎：1

その他項目については表 1 にまとめた。研究は主として 2010 年以降に行われており、Phase 1 が主体であるが、一部 Phase 2 として行われた試験も見られる。対象者は、悪性腫瘍が対象の場合には患者となっているが、その他の場合には健康人や患者など様々である。悪性腫瘍や代謝疾患など全身性疾患に対しては経静脈的投与が、眼科疾患や呼吸器疾患に対しては局所投与（点眼、硝子体注射、吸入など）が行われている。投与量は 170cm, 60kg を想定すると、経静脈的投与の場合、1 - 100mg までの投与量となっている。また、眼科疾患に対しては 0.1 - 2mg ほど、呼吸器疾患に対しては 5 - 150 mg ほどとなっていた。用量漸増については、3+3 デザインの判定基準や効果安全性委員会の判定などに応じて決定されていた。重篤な有害事象については、悪性腫瘍の場合には疾患の重症度を反映して複数見られているが、Tabernerо らの報告では（文献 5）VEGF 阻害による肝新生の抑制などが原因と推定される肝不全が発生しており、詳細が報告されている。その他の対象疾患については試験薬に起因する重篤な有害事象は認めていない。Dose limiting toxicity (DLT) の出現についても、悪性腫瘍が対象の場合のみに認められており、それに基づいて至適用量が選択されているが、その他の対象疾患では、設定された最大投与量が選択されることとなっている場合が多いようだ。Zuckerman らや Gish ら（文献 1、8）などは、各臨床検査項目の変化の用量依存性の確認や、RNA 干渉の臨床応

用が試みられた当初より懸念されている試験薬による免疫反応の惹起を想定して行われた炎症性サイトカイン (IL-6, 10, TNF α , INF- γ など) の測定などを詳細にわたって報告している。有効性の指標は様々であるが、原疾患の病勢を直接反映する指標 (腫瘍径、LDL 値、眼圧、発症率など) のほか、血中の siRNA 濃度や標的遺伝子産物の濃度などを測定している場合があった。

D. 考察

Phase 1 の用量探索については非常に細かく用量設定が行われており、用量に応じた反応性の予測が困難なことが伺える。そのため、各群の人数は少数であっても試験全体としては 30 人以上となっている場合が多く、対象者のリクルートが課題となっている場合が多いのではないかと推察される。また、悪性腫瘍の場合を除いて重篤な有害事象の発現頻度は低いと見られ、特に、RNA 干渉を利用した核酸製剤に共通する有害事象のようなものは現在の用法・用量では認められないようである。RNA 干渉経静脈的投与の際の用量は概ね 100 mg 程度までとなっており、今後の開発の目安となるものと思われる。なお、薬剤名に「ALN」を冠したものは全て米国 Alnylam 社 (マサチューセッツ州) による開発となっており、企業主導による RNA 干渉を利用した医薬品開発の中心的役割を担っているものと考えられる。表 1 に示した臨床試験については、以後の開発が中止されたとされるものも含まれており、今後の開発においては有効性の検証が重要となる。

E. 結論

RNA 干渉を利用した核酸医薬の臨床開発においては、徐々に用法・用量および安全性に関するデータが蓄積されており、今後より効率的な臨床試験の計画が可能となることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Harada T, Yamamoto E, Yamano HO, *_Nojima M_*, Maruyama R, Kumegawa K, Ashida M, Yoshikawa K, Kimura T, Harada E, Takagi R, Tanaka Y, Aoki H, Nishizono M, Nakaoka M, Tsuyada A, Niinuma T, Kai M, Shimoda K, Shinomura Y, Sugai T, Imai K, Suzuki H. Analysis of DNA Methylation in

Bowel Lavage Fluid for Detection of Colorectal Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2014 [Epub ahead of print]

Ito M, Mitsuhashi K, Igarashi H, Nosho K, Naito T, Yoshii S, Takahashi H, Fujita M, Sukawa Y, Yamamoto E, Takahashi T, Adachi Y, *_Nojima M_*, Sasaki Y, Tokino T, Baba Y, Maruyama R, Suzuki H, Imai K, Yamamoto H, Shinomura Y. MicroRNA-31 expression in relation to BRAF mutation, CpG island methylation and colorectal continuum in serrated lesions. *Int J Cancer*. 2014;135:2507-15.

Lai CY, Yamazaki S, Okabe M, Suzuki S, Maeyama Y, Iimura Y, Onodera M, Kakuta S, Iwakura Y, *_Nojima M_*, Otsu M, Nakauchi H. Stage-specific roles for CXCR4 signaling in murine hematopoietic stem/progenitor cells in the process of bone marrow repopulation. *Stem Cells*. 2014;32:1929-42.

Nosho K, Igarashi H, *_Nojima M_*, Ito M, Maruyama R, Yoshii S, Naito T, Sukawa Y, Mikami M, Sumioka W, Yamamoto E, Kurokawa S, Adachi Y, Takahashi H, Okuda H, Kusumi T, Hosokawa M, Fujita M, Hasegawa T, Okita K, Hirata K, Suzuki H, Yamamoto H, Shinomura Y. Association of microRNA-31 with BRAF mutation, colorectal cancer survival and serrated pathway. *Carcinogenesis*. 2014;35:776-83.

Yoshii S, *_Nojima M_*, Nosho K, Omori S, Kusumi T, Okuda H, Tsukagoshi H, Fujita M,

Yamamoto H, Hosokawa M. Factors associated with risk for colorectal cancer recurrence after endoscopic resection of T1 tumors. Clin Gastroenterol Hepatol. 2014;12:292-302.

Suzuki R, Yamamoto E, *Nojima M*, Maruyama R, Yamano HO, Yoshikawa K, Kimura T, Harada T, Ashida M, Niinuma T,

Sato A, Noshio K, Yamamoto H, Kai M, Sugai T, Imai K, Suzuki H, Shinomura Y. Aberrant methylation of microRNA-34b/c is a predictive marker of metachronous gastric cancer risk. J Gastroenterol. 2014;49:1135-44.

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

表 1 RNA 干渉を利用した核酸医薬の臨床試験に関する文献のまとめ

Reference	Authors	Journal	Year	Drug name	Disease	Subjects	Phase	N	Arm number
1	Zuckerman JE	Proc Natl Acad Sci U S A	2014	CALAA-01	Multiple cancers	Cancer patient	1	24/ 5	5/ 1
2	Fitzgerald K	Lancet	2014	ALN-PCS	Hyper lipidemia	Healthy individual	1	32	7
3	Moreno-Montanes J	Mol Ther	2014	SYL040012	Intraocular pressure	Healthy individual	1	30	3
4	Coelho T	N Eng J Med	2013	ALN-TTR01, 02	Transthyretin Amyloidosis	Transthyretin Amyloidosis (01), healthy (02)	1	49	many
5	Taberner J	Cancer Discov	2013	ALN-VSP	Multiple cancers	Cancer patient	1	41	6
6	Nguyen QD	Ophthalmology	2012	PF-04523655	age-related macular degeneration (AMD)	pre-AMD	2	151	5
7	Zamora MR	Am J Respir Crit Care Med	2011	ALN-RSV01	RS virus pneumonea	Lung transpant patients	2	24	2
8	Gish RG	Antivir Ther	2011	NUCB1000	HBV hepatitis	HBV hepatitis	First in man	3	1
9	Kaiser PK	Am J Ophthalmol	2010	Sirna-027	age-related macular degeneration (AMD)	pre-AMD	1	26	6
10	DeVincenzo J	Proc Natl Acad Sci U S A	2010	ALN-RSV01	RS virus pneumonea	Healthy individual	2	88	4
11	DeVincenzo J	Antiviral Res	2008	ALN-RSV01	RS virus pneumonea	Healthy individual	1	101	many

Reference	Target	Route	Dose	unit	nanoparticle	Drug-related SAE
1	RRM2	intravenous	3, 9, 18, 24, 30/ 18 to 27	mg/m2	+	Bradycardia, Hematouria
2	PCSK9	intravenous	0.015, 0.045, 0.090, 0.150, 0.250, 0.400, placebo	mg/kg	+	None
3	ADRB2	Ocular instillation	600(single, repeat), 900(repeat)	ug/eye/day	-	None
4	TTR	intravenous	ALN-TTR01/ 02: 01: 0.01, 0.03, 0.1, 0.2, 0.4, 0.7, 1.0/ 02: 0.01, 0.05, 0.15, 0.3, 0.5, control siRNA 0.4, placebo	mg/kg	+	None
5	KSP, VEGF	intravenous	0.1, 0.2, 0.4, 0.7, 1.25, 1.5 1Q4W, 3Q4W, 3Q2W,	mg/kg	+	Liver failure
6	RTP801	intravitreal injection	1+ranibizumab (Q4W), ranibizumab (Q4W) *QxW = every x weeks	mg	-	Ranibizumab related only
7	RSV (virus)	nasal spray	0.6, placebo	mg/kg	-	None
8	HBV (virus)	intravenous	5	mg	+	None
9	VEGFR-1,-2	intravitreal injection	100, 200, 400, 800, 12000, 1600	ug/eye	-	None
10	RSV (virus)	nasal spray	75, 150	mg	-	None
11	RSV (virus)	nasal spray	1.5, 5, 15, 50, 150/ 5, 25, 150/ 5, 25, 150 and placebo for all dose	mg	-	None

文献

1. Zuckerman JE, Gritli I, Tolcher A, et. al. Correlating animal and human phase Ia/Ib clinical data with CALAA-01, a targeted, polymer-based nanoparticle containing siRNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Aug 5;111(31):11449-54.
2. Fitzgerald K, Frank-Kamenetsky M, Shulga-Morskaya S, et. al. Effect of an RNA interference drug on the synthesis of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and the concentration of serum LDL cholesterol in healthy volunteers: a randomised, single-blind,

- placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet*. 2014 Jan 4;383(9911):60-8.
3. Moreno-Montañés J, Sádaba B, Ruz V, et.al. Phase I clinical trial of SYL040012, a small interfering RNA targeting β -adrenergic receptor 2, for lowering intraocular pressure. *Mol Ther*. 2014 Jan;22(1):226-32.
 4. Coelho T, Adams D, Silva A, et.al. Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med*. 2013 Aug 29;369(9):819-29.
 5. Tabernero J, Shapiro GI, LoRusso PM, et.al. First-in-humans trial of an RNA interference therapeutic targeting VEGF and KSP in cancer patients with liver involvement. *Cancer Discov*. 2013 Apr;3(4):406-17.
 6. Nguyen QD, Schachar RA, Nduaka CI, et.al; MONET Clinical Study Group. Evaluation of the siRNA PF-04523655 versus ranibizumab for the treatment of neovascular age-related macular degeneration (MONET Study). *Ophthalmology*. 2012 Sep;119(9):1867-73.
 7. Zamora MR, Budev M, Rolfé M, et.al. RNA interference therapy in lung transplant patients infected with respiratory syncytial virus. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Feb 15;183(4):531-8.
 8. Gish RG, Satishchandran C, Young M, Pachuk C. RNA interference and its potential applications to chronic HBV treatment: results of a Phase I safety and tolerability study. *Antivir Ther*. 2011;16(4):547-54.
 9. Kaiser PK, Symons RC, Shah SM, et.al; Sirna-027 Study Investigators. RNAi-based treatment for neovascular age-related macular degeneration by Sirna-027. *Am J Ophthalmol*. 2010 Jul;150(1):33-39.e2.
 10. DeVincenzo J, Cehelsky JE, Alvarez R, et.al. Evaluation of the safety, tolerability and pharmacokinetics of ALN-RSV01, a novel RNAi antiviral therapeutic directed against respiratory syncytial virus (RSV). *Antiviral Res*. 2008 Mar;77(3):225-31.
 11. DeVincenzo J, Lambkin-Williams R, Wilkinson T, et.al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of an RNAi-based therapy directed against respiratory syncytial virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 May 11;107(19):8800-5.

様式第19

学会等発表実績

委託業務題目「PRDM14を標的とする革新的核酸治療による難治性がん克服のための実用化に関する臨床研究」

機関名 国立大学法人 東京大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
ヒストンメチル化転移酵素PRDM14分子を標的とした核酸製剤による乳がん治療法の開発（口頭）	谷口博昭、山本博幸、今井浩三	第73回日本癌学会学術総会	10/27/2014	国内
乳がんを対象としたヒストンメチル基転移酵素を標的とする新規核酸製剤の開発（口頭）	谷口博昭	文部科学省・次世代がんシーズ戦略的育成プログラム公開シンポジウム「革新的創薬シーズを活かす最先端DDS・イメージング技術」	10/16/2014	国内
転写因子PRDM14分子を標的とした新規RNAi-ミセル複合体による乳がん治療法の開発（口頭）	谷口博昭、前田芳周、宮田完二郎、山本博幸、片岡一則、今井浩三	第30回DDS学会	07/31/2014	国内
PRDM14 contribution to breast cancer progression and therapeutic model using PRDM14 RNAi (Oral)	谷口博昭、山本博幸、越川直彦、今井浩三	第23回がん転移学会学術総会	07/11/2014	国内
Developing novel strategies for treatment on cancer metastasis (Oral)	谷口博昭	第23回がん転移学会学術総会（第18回がん転移学会研究奨励賞受賞記念講演）	07/11/2014	国内
Nursing Education Program on Translational Research as a Master's Course.	Noriko Fujiwara, Fumitaka Nagamura, Kazufumi Matsumoto, Naohide Yamashita, Yukie Takemura, Kiyoko Kamibeppu.	International Association of Clinical Research Nurses.	2014	国外
A combination of the anti-fibroblast growth factor receptor 1 monoclonal antibody and interferon-a/b suppresses human hepatic cancer cells in vitro and in vivo. (口頭)	Kato Y, Hiromi H, Tujisaki M, Matsune T, Sasaki S, Hinoda Y, Shinomura Y, Imai K.	41st Congress of the International Society of Oncology and Biomarkers. 2014, Barcelona.	2014 Mar.	国外
東京大学医科学研究所におけるTRの現状と展望 シンポジウム2 「我が国におけるトランスレーショナルリサーチの現状とこれからの展望」（口頭）	今井浩三	第51回日本臨床分子医学会学術集会 東京国際フォーラム	2014年4月	国内

招聘講演「東大医科研における橋渡し研究とその発展」(口頭)	今井浩三	第103回日本病理学会総会 広島国際会議場フェニックスホール	2014年4月	国内
特別講演「最先端医療の開発とDNA情報に基づく新たな社会」(口頭)	今井浩三	多摩大学 寺島実郎監修 リレー講座 東京	2014年6月	国内
東京大学医科学研究所における橋渡し研究の現状とその展開(口頭)	今井浩三	「ヒト疾患モデル研究センター」シンポジウム, 東京理科大学生命医科学研究所	2014年7月	国内
未来の医療を変えるナノDDS～あらゆる微小空間で生体機能をコントロールする革新技術の創製～(招待講演)	片岡 一則	公益財団法人日本化学会化学会館 千代田区 東京都(新春特別講演会「未踏科学技術2015」)	2015.01.20	国内
ナノDDS技術による均質・高付加価値な難病治療・再生医療の実現(基調講演)	片岡 一則	名古屋大学 豊田講堂シンポジオン 名古屋市、愛知県(第3回 国際先端生物学・医学・工学会議(ICIBME 2015))	2015.01.15	国内
高分子ミセル医薬: その特徴と将来展望(招待講演)	片岡 一則	東京ガーデンパレス 文京区 東京都(日本DDS学会創立30周年シンポジウム)	2014.12.15	国内
Block copolymer micelles as smart nanosystems for targeted drug delivery(招待講演)	片岡 一則	Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts, USA("Frontiers in Biomedical Engineering")	2014.09.24	国外
Targeted chemo- and molecular-therapy by self-assembled supramolecular nanosystems from functionalized block copolymers(招待講演)	片岡 一則	University of California, San Diego Price Center, San Diego(ISACS15 Challenges in Nanoscience0)	2014.08.18	国外
高分子ミセル型ナノ医薬品の研究開発(招待講演)	西山 伸宏	京都国際会館, 京都(新製剤技術とエンジニアリングを考える会 第12回技術講演会)	2014.07.16	国内
がんの診断・治療のための高分子ミセル型DDSの開発(招待講演)	西山 伸宏	仙台国際センター, 仙台(日本病院薬剤師会東北ブロック第4回学術大会)	2014.05.31	国内
Development of supramolecular nanocarriers for cancer diagnosis and therapy(招待講演)	西山 伸宏	KAIST Institute, Korea (Emerging Biomaterials 2014)	2014.05.23	国外
発表題目: がん患者の倦怠感、疼痛、QOLに関する観察研究(ポスター発表)	岩瀬 哲	第19回日本緩和医療学会総会(神戸)	2014.06.20	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外の別
--------------	-------	------------------	--------	--------

The effect of IGF-I receptor blockade for human esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma.	Adachi Y, Ohashi H, Imusumran A, Yamamoto H, Matsunaga Y, Taniguchi H , Nosho K, Suzuki H, Sasaki Y, Arimura Y, Carbone DP, Imai K, Shinoumura Y.	<i>Tumor Biol</i> ,	02/2014	国外
An updated review of gastric cancer in the next-generation sequencing era: insights from bench to bedside and vice versa.	Yamamoto H, Watanabe Y, Maehata T, Morita R, Yoshida Y, Oikawa R, Ishigooka S, Ozawa S, Matsuo Y, Hosoya K, Yamashita M, Taniguchi H , Nosho K, Suzuki H, Yasuda H, Shinomura Y, Itoh F.	<i>World J Gastroenterol</i> .	04/2014	国外
Effect of graft sources on allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcome in adults with chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors: a Japanese Society of Hematopoietic Cell Transplantation retrospective analysis.	Ohashi K, Nagamura-Inoue T, Nagamura F, Tojo A, Miyamura K, Mori T, Kurokawa M, Taniguchi S, Ishikawa J, Morishima Y, Atsuta Y, Sakamaki H.	Int J Hematol	2014	国外
FDAにおける抗がん剤の審査 医薬品／医療機器の承認申請書の上手な書き方・まとめ方	長村 文孝	技術情報協会	2014	国内
トランスレーショナルリサーチの重要性	長村 文孝	病院	2014	国内
その他のがん	長村 文孝	がん患者のところに寄り添うためにサイコオンコロジーの基礎と実践	2014	国内
がん関連の臨床研究	長村 文孝	がん患者のところに寄り添うためにサイコオンコロジーの基礎と実践	2014	国内

Mesenchymal stem cells cancel azoxymethane-induced tumor initiation.	Nasuno M, Arimura Y, Nagaishi K, Isshiki H, Onodera K, Nakagaki S, Watanabe S, Idogawa M, Yamashita K, Naishiro Y, Adachi Y, Suzuki H, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y.	STEM CELLS	2014 Apr.	国外
MicroRNA-31 expression in relation to BRAF mutation, CpG island methylation and colorectal continuum in serrated lesions.	Ito M, Mitsuhashi K, Igarashi H, Nosho K, Naito T, Yoshii S, Takahashi H, Fujita M, Sukawa Y, Yamamoto E, Takahashi T, Adachi Y, Nojima M, Sasaki Y, Tokino T, Baba Y, Maruyama R, Suzuki H, Imai K, Yamamoto H, Shinomura Y.	Int J Cancer	2014 Apr.	国外
The effect of IGF-I receptor blockade for human esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma	Adachi Y, Ohashi H, Imsumran A, Yamamoto H, Matsunaga Y, Taniguchi H, Nosho K, Suzuki H, Sasaki Y, Arimura Y, Carbone DP, Imai K, Shinomura Y.	Tumor Biol	2014 Feb	国外
The role of DNA methylation in the genetics and epigenetics of multiple myeloma.	Yasui H, Ishida T, Imai K.	Series: Cancer Etiology, Diagnosis and Treatments.	2014	国外

Analysis of DNA methylation in bowel lavage fluid for detection of colorectal cancer.	Harada T, Yamamoto E, Yamano H, Nojima M, Maruyama R, Kumegawa K, Ashida M, Yoshikawa K, Kimura T, Harada E, Takagi R, Tanaka Y, Aoki H, Nishizono M, Nakaoka M, Tuyada A, Niinuma T, Kai M, Shimoda K, Shinomura Y, Sugai T, Imai K, Suzuki H.	Cancer Prevention Research	2014 Aug.	国外
Overview and Future prospect of “Promotion plan for the platform of human resource development for cancer”	Imai K	Juntendo Medical Journal	2014 May.	国内
Everyday clinical practice in IgG4-related dacryoadenitis and/or sialadenitis: Result from the SMART database.	Yamamoto M, Yajima H, Takahashi H, Yokoyama Y, Ishigami K, Shimizu Y, Tabeya T, Suzuki C, Naishiro Y, Takano K, Yamashita K, Hashimoto M, Keira Y, Honda S, Abe T, Suzuki Y, Mukai M, Himi T, Hasegawa T, Imai K, Shinomura Y.	Modern Rheumatology	2014 Aug.	国外
IGF2 differentially methylated region hypomethylation in relation to pathological and molecular features of serrated lesions.	Naito T, Noshio K, Ito M, Igarashi H, Mitsuhashi K, Yoshii S, Aoki H, Nomura M, Sukawa Y, Yamamoto E, Adachi Y, Takahashi H, Hosokawa M, Fujita M, Takenouchi T, Maruyama R, Suzuki H, Baba Y, Imai K, Yamamoto H, Ogino S, Shinomura Y.	World Journal of Gastroenterol	2014 Aug.	国外

CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α)+ M2 macrophages contribute to fibrosis in IgG4-related disease?	Yamamoto M, Shimizu Y, Takahashi H, Yajima H, Yokoyama Y, Ishigami K, Tabeya T, Suzuki C, Matsui M, Naishiro Y, Imai K, Shinomura Y.	Mod Rheumatol	2014 Sep.	国外
DNA synthesis inhibitors for the treatment of gastrointestinal cancer.	Yasui H, Tsurita G, Imai K.	Expert Opin Pharmacother.	Epub 2014 Sep.	国外
The Use of Bone Marrow Stromal Cells (Bone Marrow-Derived Multipotent Mesenchymal Stromal Cells) for Alveolar Bone Tissue Engineering: Basic Science to Clinical Translation.	Kagami H, Agata H, Inoue M, Asahina I, Tojo A, Yamashita N, Imai K.	Tissue Engineering Part B: Reviews	2014 Nov.	国外
Association of microRNA-31-5p with clinical efficacy of anti-EGFR therapy in patients with metastatic colorectal cancer.	Igarashi H, Kurihara H, Mitsuhashi K, Ito M, Okuda H, Kanno S, Naito T, Yoshii S, Takahashi H, Kusumi T, Hasegawa T, Sukawa Y, Adachi Y, Okita K, Hirata K, Imamura Y, Baba Y, Imai K, Suzuki H, Yamamoto H, Noshio K, Shinomura Y.	Annals of Surgical Oncology	2014 Dec.	国外
Screening of drugs to treat 8p11 myeloproliferative syndrome using patient-derived induced pluripotent stem cells with fusion gene CEP110-FGFR1.	Yamamoto S, Otsu M, Matsuzaka E, Konishi C, Takagi H, Hanada S, Mochizuki S, Nakauchi H, Imai K, Tsuji K, Ebihara Y.	Plos One	2015 in press	国外

Clinicopathological and molecular characteristics of serrated lesions in Japanese elderly patients.	Nosho K, Igarashi H, Ito M, Mitsuhashi K, Kurihara H, Kanno S, Yoshii S, Mikami M, Takahashi H, Kusumi T, Hosokawa M, Sukawa Y, Adachi Y, Hasegawa T, Okita K, Hirata K, Maruyama R, Suzuki H, Imai K, Yamamoto H, Shinomura Y.	Digestion	2015 Jan.	国外
Identification of relapse predictors in IgG4-related disease using multivariate analysis of clinical data at the first visit and initial treatment.	Yamamoto M, Nojima M, Takahashi H, Yokoyama Y, Ishigami K, Yajima H, Shimizu Y, Tabeya T, Matsui M, Suzuki C, Naishiro Y, Takano KI, Himi T, Imai K, Shinomura Y.	Rheumatology	2015 Jan.	国外
Seasonal allergies and serial changes of serum levels of IgG4 in cases treated with maintenance therapy for IgG4-related disease.	Yamamoto M, Takahashi H, Shimizu Y, Yajima H, Suzuki C, Naishiro Y, Imai K, Shinomura Y.	Modern Rheumatology	2015 Jan.	国外
Microsatellite instability.	Yamamoto H, Imai K.	Archives of Toxicology	2015 in press	国外
Association of Fusobacterium species in pancreatic cancer tissues with molecular features and prognosis.	Mitsuhashi K, Nosho K, Sukawa Y, Matsunaga Y, Ito M, Kurihara H, Kanno S, Igarashi H, Naito T, Adachi Y, Tachibana M, Tanuma T, Maguchi H, Shinohara T, Hasegawa T, Imamura M, Kimura Y, Hirata K, Maruyama R, Suzuki H, Imai K, Yamamoto H, Shinomura Y.	Oncotarget	2015 in press	国外