

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進（医療機器開発

（ナノテクノロジーなど）総合推進）研究事業

腫瘍血管内皮細胞への薬物送達システムによる  
耐性癌の化学療法と臨床応用へ向けた製剤化

平成24年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 櫻井 遊

平成26（2014）年 5月

# 目 次

・ 総合研究報告	1
腫瘍血管内皮細胞への薬物送達システムによる 耐性癌の化学療法と臨床応用へ向けた製剤化	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	9
・ 研究成果の刊行物・別刷り	10

厚生労働科学研究費補助金  
医療機器開発推進（医療機器開発（ナノテクノロジーなど）総合推進）研究事業  
総合研究報告書

腫瘍血管内皮細胞への薬物送達システムによる耐性癌の化学療法と  
臨床応用へ向けた製剤化

研究代表者 櫻井 遊 北海道大学 大学院薬学研究院 特任助教

## 研究要旨

がん細胞自身ではなく血管新生を阻害することは耐性癌治療の有用な手段であり、薬物送達システム（DDS）による腫瘍血管内皮選択的な抗癌剤の送達は、効果の向上と副作用の軽減に有効である。申請者は標的化リガンドと細胞膜透過性ペプチドを組み合わせた dual-ligand リポソームにより腫瘍血管へ選択的な薬物送達と耐性癌治療に成功している。従来治療効果に乏しい癌種でも DDS で血管に薬物を送達し抗腫瘍効果が示されれば、既存の抗癌剤の適応拡大とライフサイクルの延長など医薬品産業の競争力を下支えする基盤技術として貢献が期待される。またポソーム製剤の開発を通じて医薬品レギュレーション行政へ貢献が期待される。本事業では、dual-ligand リポソームを用いた耐性癌化学療法を最終目的として、適応癌種拡大と非臨床試験へむけた製剤化の検討を行った。

平成 24 年度には、適応癌種の拡大に向けて様々ながん細胞を用いた抗がん剤感受性の評価を行った。その結果これまで用いてきた腎細胞癌だけではなく、17 種の癌細胞からドキソルビシンに強い耐性を示す肺癌、乳癌、卵巣癌、膵癌の 4 種を同定した。また新たに 2 種類標的分子（Integrin と VEGF-R2）のリガンド分子を搭載した新規 dual-ligand リポソームの構築に成功した。また平成 25 年度の研究では、閉鎖流路を用いたリポソームの大量製造に着手した。閉鎖流路として、有機化合物合成に用いられるマイクロリアクターとシリンジポンプを組み合わせたシステムを作成した。流速や脂質濃度などの検討を行うことで、目的の大きさを有する、およそ 100 mL/hr 単位でのリポソームの大量製造法の確立に成功した。

### A. 研究目的

がん治療の際に外科的療法と並んで用いられる化学療法において、最も問題とされるのは薬剤耐性化である。原因としてよく知られているものは、白金製剤では白金を解毒するメタロチオネイン、その他の低分子化合物では薬剤の細胞外へ

の排出を担う P 糖たんぱく質の発現後身である。これらの特性変化はがん細胞自身の増殖速度が通常の細胞と比較して非常に早く、それに伴いゲノム配列が変異を起こしやすいという特徴に起因するとされている。上述の背景の元、がん細胞に酸素や栄養の供給を担う腫瘍内の血管

を標的とした血管新生阻害療法が注目されており、薬剤耐性癌にも有効であることが報告されている。しかし、一方では消化管出血や腎障害など重篤な副作用が問題となっている。これは、がん組織以外の正常組織の血管においても既存の血管新生阻害剤の標的遺伝子が阻害され、正常組織のホメオスタシスが崩れてしまうことが一因である。したがって、疾患部位であるがん組織の腫瘍血管に選択的薬物送達を可能とする薬物送達システム (Drug Delivery System; DDS) は治療効果の増強と副作用の軽減に有効な手立てとなる。

我々は、腫瘍血管内皮細胞に選択的に薬物を送達可能な腫瘍血管内皮標的化 dual-ligand リポソームの開発に成功している (PCT/JP2011/053963)。Dual-ligand リポソームは、腫瘍血管に特異的に発現している標的分子を認識する選択的リガンドと、細胞内取り込みを飛躍的に向上させる細胞膜透過性ペプチド (Cell Penetrating Peptide; CPP) が修飾されている。また、腫瘍血管への親和性の向上を目的として、直径を約 300 nm に制御している (Fig. 1)。これまでにドキソルビシン封入リポソーム Doxil<sup>®</sup>では全く効果の無い薬剤耐性がん種であるヒト腎細胞がんを用いた in vivo モデルにおいて、抗腫瘍効果が得られることを明らかにしている (Takara K *et al.*, *J Control Release* 2013)。本システムを

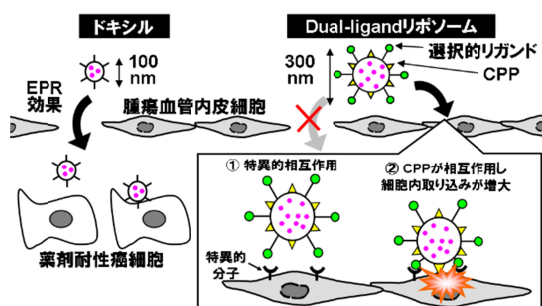


Fig. 1 Dual-ligand リポソームの概念図

臨床に応用することが可能となれば、既存の抗がん剤の適応拡大、すなわち医薬品のライフサイクルマネジメントが容易になることが期待される。さらに、リポソームは水相や疎水相に核酸を含む様々な医薬品分子を封入することができることから、今後革新的医薬品の創製にもつながり得ると考えられる。また、リポソーム製剤の開発を通じて医薬品医療機器総合機構「医薬品・医療機器や久慈戦略相談」を活用し、ナノテクノロジーを基盤とする医薬に置いて必要な規格試験や特性解析などの検討を通じて、医薬品レギュレーション行政への貢献が見込まれる。

以上より、2年間に亘った本研究事業では、初年度に本製剤の適応可能ながん種の同定を行った。また、dual-ligand リポソームに用いる、特異的リガンドを他の種類のリガンドに変更可能であるかの検討も行い、論文として既に報告を行った腎細胞がん以外のがん種に対する適応可能性について検証した。腫瘍血管へ抗がん剤を送達し薬剤耐性がんを治療可能な dual-ligand リポソームの臨床応用化を最終目的として、非臨床試験に向けた GMP 基準の製剤化に向けた大量調製法の確立

を目的として研究を遂行した。また、粒子径の増大がもたらす腫瘍血管内皮細胞への結合力の増大メカニズムの解明も合わせて行った。

## B. 研究方法

### 新規 ligand 修飾ラージサイズリポソームの開発と in vivo での機能評価

本年度は、dual-ligand リポソームを修飾する標的化リガンドとして腫瘍血管内皮細胞に高発現する $\alpha_v\beta_3$  integrin を認識する cyclic RGD ペプチドを用いた (RGD リポソーム)。初めにこれまでと同様大きな粒子径を有するリポソームが効果的に腫瘍血管内皮細胞を標的化可能かの評価を行った。

本実験で用いたリポソームは単純水合法で調製を行った。Egg phosphatidylcholine (EPC) とコレステロール (chol)、polyethylenglycol (PEG) 脂質、およびその他のリガンド、CPP 等を、EPC:chol が 7:3、その他が任意の顔料となるようにガラス試験管に滴下し、よく混合した。その後、減圧下有機溶媒を留去することで、脂質薄膜を得た。等張にした 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) あるいは 20 mM アンモニウム硫酸緩衝液 (pH 5.5) を加えて水和したのち、拡販することで脂質薄膜をかい離させた。その後、任意のサイズの小孔を有するポリカーボネート膜を用いて粒子径を整えた。粒子径ならびにゼータ電位は動的光散乱法 (Zetasizer Nano ZA ZEN3600、Malvern 社) によって測定した。

血管内皮細胞への RGD リポソームの取り込みはヒト臍帯静脈血管内皮細胞

(HUVEC) を用いて検討を行った。取り込みを見る際には、RGD リポソームの脂質薄膜を調製する際に 0.1%の蛍光物質ローダミン標識脂質を添加することで、RGD リポソームに蛍光標識を施した。HUVEC 細胞への取り込みは、リポソームを添加してから 2 時間後に共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM) あるいは細胞溶解液の蛍光強度を測定することにより求めた。

in vivo での機能評価はヒト腎細胞がん OS-RC-2 細胞  $1.0 \times 10^6$  細胞を免疫不全マウス (BALB/cAJcl *nu/nu*) の背部皮下に移植したがんモデルを用いた。移植して 10 日程度経過したのちに、蛍光標識 RGD リポソームを尾静脈内より投与し、24 時間後に腫瘍の様子を CLSM (Nikon A1r) を用いて観察した。血管の造影にはフルオレセインで蛍光標識された *Griffonia simplicifolia* 由来の isolectin B4 40  $\mu\text{g}$  を腫瘍採取の 10 分前に静脈内投与することで行った。

ドキソルビシン (DOX) 封入 RGD リポソームの薬理効果を調べる際には、先ほど同様に作製した担がんマウスに対して、DOX 量で 1.0 ~ 2.0 mg/kg body weight の投与量で投与したのちに、継時的に腫瘍体積を測定し、抗腫瘍効果の判定を行った。なお、全身毒性の目安としては体重をモニタリングすることで簡易的に評価した。

RGD リポソームの HUVEC 細胞との解離定数 (dissociation constant;  $K_D$ ) は、種々のリポソームを添加した際の細胞内取り込み量をプロットし、シグマプロットを用いて近似曲線を描くことにより算出した。

### 適応癌種拡大にむけた耐性癌種の同定と *in vivo* モデル確立

研究開始時、Dual-ligand リポソームの有効性が確認されている癌種は腎細胞がん OSRC-2 のみであったため、適応癌種の拡大を目的として市場の大きい肝癌や肺癌、難治性の膵癌などを中心として、17種類の癌細胞を用い、ドキソルビシンへ耐性の高い癌種の選定を行った。各癌細胞に対して、培地に各濃度となるようにドキソルビシンを添加後、8時間インキュベートした。ドキソルビシンの除去と洗浄後にさらに16時間インキュベートし、細胞生存率を cell counting kit-8

(Dojindo) を用いて評価し、薬剤反応曲線から算出された EC50 から、ドキソルビシン耐性癌種を選定した。

### GMP 基準での製造に向けた、閉鎖流路でのリポソーム製造

閉鎖流路による連続式のリポソーム調製を行った。流路としてはワイエムシ社のマイクロリアクター (SUS 製、Deneb (helix) 型) を用いた。脂質アルコール溶液と緩衝液はそれぞれ 10 mL ディスポーザブルシリンジ (Henke-Sass, Wolf 社) をシリンジポンプ (ハミルトン社) を用いて任意の流速で射出ように操作した。

リポソーム溶液中のアルコールはタンジェンシャルフローろ過により除去した。MicroKros (Spectrum 社、MWC0 50,000) を用いて、溶液を 500  $\mu$ L まで濃縮したのちに、PBS 5 mL を加え、再び 500  $\mu$ L まで濃縮した。この操作を 3 回行うことで、ICH

ガイドラインに定められているアルコール残存量よりも理論的に少ないように設定している。

なお、本研究事業は動物実験を実施するため、北海道大学が定める「動物実験に関する規定」に基づく承認を取得済みであり、必要最低限の個体数やがん治療実験における適切なエンドポイントの設定など、動物愛護上の配慮をした上で、遂行した。

### C. 研究結果

#### 新規 ligand 修飾ラージサイズリポソームの開発と *in vivo* での機能評価

RGD モチーフを含む  $\alpha_v\beta_3$  integrin 標的リガンド修飾リポソームを 100 nm と 400 nm のポアサイズを持つポリカーボネート膜に通す extrusion 法によって平均粒子径約 100 nm の small size リポソーム (Small) と 300 nm の large size リポソーム (Large) を得た (Fig. 2)。

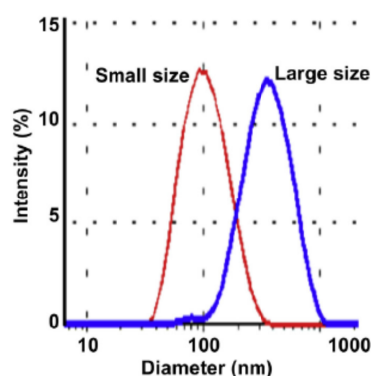


Fig. 2 各粒子径のリポソームの粒度分布

これら異なるサイズを持つリポソームをローダミン脂質によって赤色蛍光標識を行った。この蛍光標識リポソームを

HUVEC 細胞に添加し、2 時間後に細胞を CLSM により観察した。その結果、Large においてより強い蛍光が細胞内に認められた (Fig. 3)。一方で、リガンドを修飾していないリポソームではこのような増大は認められなかった。

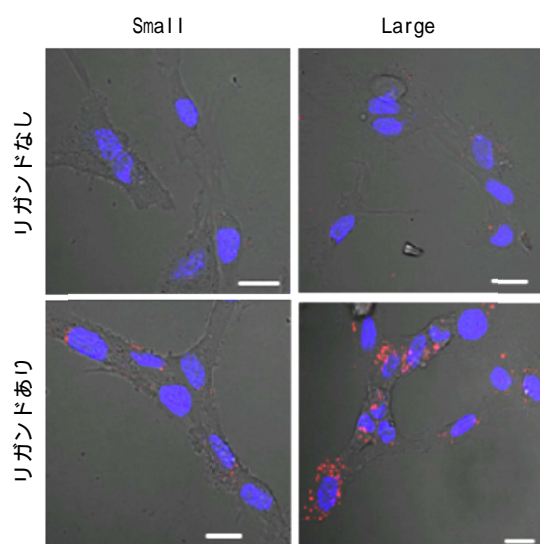


Fig. 3 リポソームの大きさが細胞内取り込み量に与える影響。赤はリポソーム、青は細胞核を表す。

同様に蛍光標識した Small と Large を細胞に脂質濃度で  $0.2 \sim 10 \times 10^{10}$  粒子となるように添加し、2 時間後の細胞内の蛍光量を定量した。これをプロットすることで得た近似曲線から各々の  $K_D$  値を算出したところ Small で 6.96、Large で 0.62 粒子/well であった。このことから、細胞への結合力は Large のほうが 10 倍高いことが示唆された。

次に担がんマウスを用いて in vivo での検討を行った。担癌マウスはヒト腎細胞がん移植免疫不全マウスを用いた。初めに Large と Small の腫瘍血管内皮細胞への結合力の違いが in vivo でも見られ

るかを評価するために、Small と Large の各 RGD リポソームを担がんマウスの尾静脈内より投与を行い、腫瘍血管との共局在を CLSM によって観察した。その結果、Large において腫瘍血管とより多くのリポソームが共局在している様子が観察された (Fig. 4)。

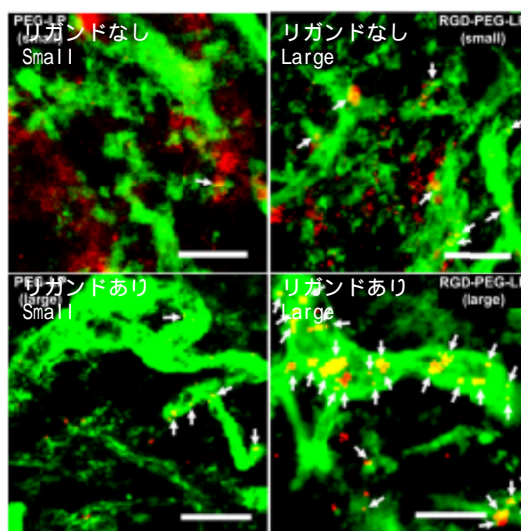


Fig. 4 リポソームの大きさが in vivo での腫瘍血管内皮細胞標的性を与える影響。赤はリポソーム、緑は血管を表す。

最後にこれまで見られてきた Large と Small の血管内皮細胞への結合力の違いが治療効果に影響を与えるのか検証を行った。ドキソルビシンをリガンドなしリポソーム、Small、Large に封入し、ドキソルビシン量として 1.5 mg/kg で毎日 3 日間投与を行い、腫瘍の体積を継続的に測定した。その結果、Large においてのみ有意な抗腫瘍効果が認められた (Fig. 5)。

Fig. 6 閉鎖流路によるリポソーム調製の模式図



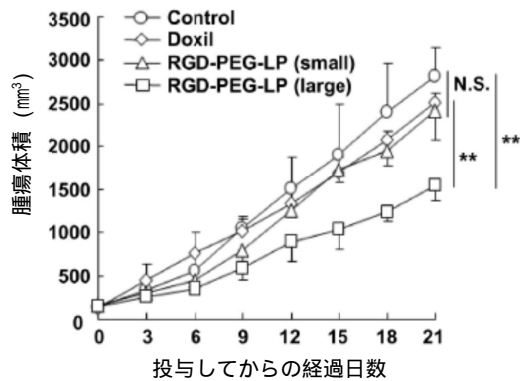


Fig. 5 ヒト腎細胞がん移植モデルにおける治療効果。

GMP 基準での製造に向けた、閉鎖流路でのリポソーム製造

研究開始時には耐性癌モデルは腎細胞癌のみであったため、17種類のヒト癌細胞に対して、ドキソルビシン感受性を検討した。その結果、癌種によってドキソルビシン感受性は大きく異なり、EC50には1000倍以上のダイバーシティが存在することが明らかとなった。また、OSRC-2と同程度にEC50が高くドキソルビシンに耐性を示す癌種とし、肺癌 (H69AR)、乳癌 (MDA-MB-231)、膵癌 (PANC-1)、卵巣癌 (SKOV-3) を見出すことに成功した (Fig.

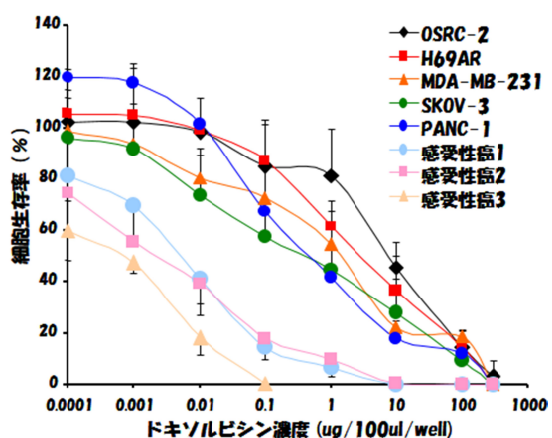


Fig. 6 各種ヒトがん細胞のドキソルビシン感受性。

6)。今後は、この4種の癌細胞を用いて in vivo 担癌モデルを作成し、従来のものや で構築された新規 dual-ligand リポソームを用い、癌種によって最適化リガンド処方を決定する。

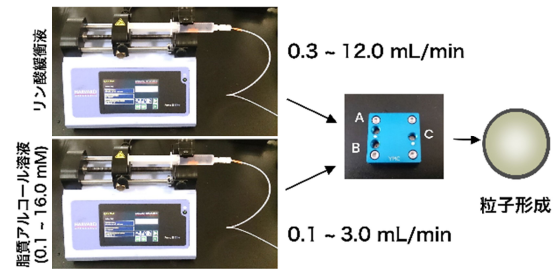
GMP 基準での製造に向けた、閉鎖流路でのリポソーム製造

Fig. 7 マイクロリアクターを用いた、リポソーム製造の模式図。

閉鎖流路によるリポソーム製造は下記の図に示すような装置を作成して行った (Fig. 7)。ワイエムシ社のマイクロリアクター (heilx 型) に対して、ハミルトン社製のシリンジポンプを用いて、流路内にリン酸緩衝液と脂質アルコール溶液を注入した。リン酸緩衝液と脂質アルコール溶液は図に示すようなそれぞれ 0.3 ~ 12.0 mL/min、0.1 ~ 3.0 mL/min で流している。なお流速比については簡単な予備検討より、リン酸緩衝液と脂質アルコール溶液が 3:1 となるようにした。

初めに流速が粒子形成に与える影響の評価を行った。流速をそれぞれ上記のよ

うに変化させ、形成した粒子の物性を動的散乱法によって測定した。その結果、流速の増大に応じて粒子径は逆相関



的に減少した (Fig. 8A)。このことから、



流速の調節によって粒子のサイズは制御可能であることが示唆された。次に、脂質濃度と粒子サイズの相関について検討を行った。脂質濃度を 0.1 ~ 16.0 mM まで変化させて粒子を形成させた際の粒子物性を同様に動的光散乱法によって決定した。その結果、2.0 mM 以上では安定に粒子形成が可能であることが明らかとなった (Fig. 8B)。

さらに流速を 4.0/12.0 (脂質アルコール溶液/緩衝液) mL/min によって作成した粒子径の小さなリポソームについて

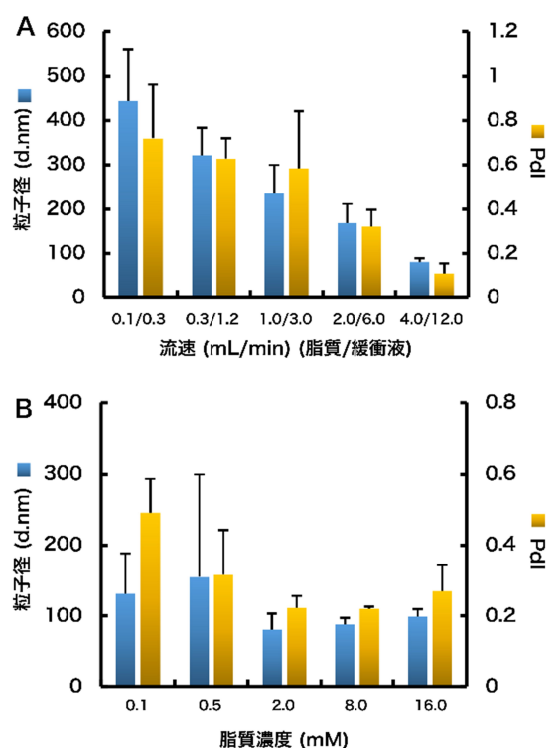


Fig. 8 閉鎖流路により調製したリポソームの物性。A) 流速を変えた際のリポソームの物性変化。B) 脂質濃度を変えた際のリポソームの物性変化。

過滅菌が可能かの検討も行った。0.2  $\mu\text{m}$  のセルロースアセテート、ポリエーテル

スルホン製のフィルターを用いてる過操作を行った。あらかじめ脂質膜に蛍光標識を施すことでの過前後の脂質回収率を算出した。その結果、セルロースアセテート製のメンブレンを用いた際にはる過後にリポソームの脂質由来の蛍光は検出できなかった。一方で、ポリエーテルスルホン製のメンブレンを用いた際にはる過後でも 90%程度の高い回収率で改修することが可能であった。

#### D. 考察

耐性癌種の同定では、4種類のドキソルビシン耐性癌を見出すことに成功した。一方で、ドキソルビシンの細胞内取り込み量を測定したところ、同じ耐性を示す癌細胞でも、その量は大きく異なっていることが明らかとなった。ドキソルビシン耐性への関与がよく知られているP糖タンパク質 (Pgp) は、細胞内のドキソルビシンの細胞外への排泄を促進する。H69AR や SKOV-3 は細胞内ドキソルビシン量が低く、Pgp の耐性への関与が示唆された (Fig. 9)。

一方で、OSRC-2 や MDA-MB-231 は細胞内ド

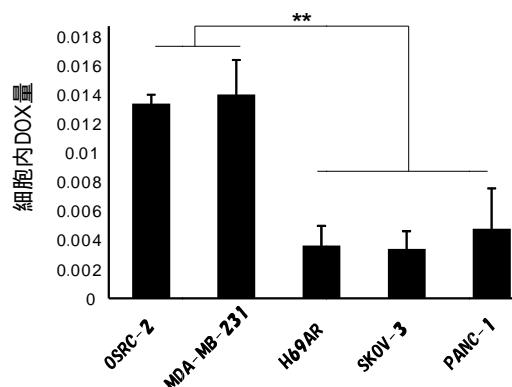


Fig. 9 細胞内ドキソルビシン量の定量。

キソルビシン量が他の癌種と比較して高

いにも関わらず耐性を示しており、おそらくドキソルビシン耐性における Pgp の寄与は小さく、異なる機構によってドキソルビシンに対して耐性を示していると考えており、詳細について現在検討中である。

さらに粒子増大による標的細胞に対する親和性の向上が認められた。これは、リポソーム上のリガンドが細胞と多価で結合することが可能になっているためだと考えられる (Fig. 10)。これにより、in vivo においても腫瘍血管内皮細胞への結合力が高まり、血中を循環する RGD リポソームが腫瘍血管内皮細胞への結合・細胞内取り込みが誘起されやすくなったものと推察される。

また、連続的な製剤調製に関しては、閉鎖流路を用いても特定の流速比、脂質濃度で溶液を注入することにより、任意の粒子径のリポソームを調製することに成功した。アルコールに溶解した脂質溶液を水溶液によって希釈してリポソームを形成する際には、それぞれの溶液の混合速度が重要であると報告されている。この結果は、過去のリポソーム形成の報告を満たすものであると言える。また、最終滅菌処理についても検討を行い、親水性のポリマーを使用することで脂質を損なうことなくリポソームをフィルター滅菌に供することが可能となった。今後、大きな粒子径を有するリポソーム調製の場合には原材料のろ過滅菌と最終製材の  $\gamma$ 線による滅菌するなどすることで、無菌状態を担保した製剤の開発を行っていく予定である。

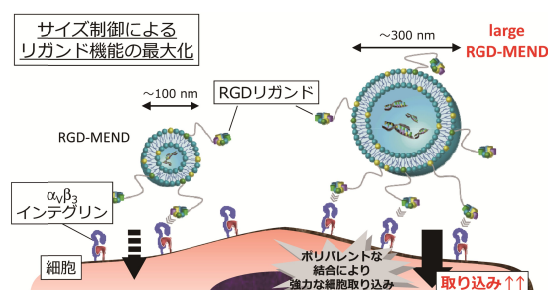


Fig. 10 粒子径を増大させた際の細胞への多価的結合

## E . 結論

新たなドキソルビシン耐性癌種を 4 種類見出すことに成功した。今後は in vivo モデルの作出と dual-ligand リポソームを用いた抗腫瘍効果試験を行う。また dual-ligand リポソームの標的分子 リガンドについて 2 種類追加することに成功した。今後は、先に見出した耐性癌モデルを含む in vivo 担癌モデルを用い癌種によるリガンドの最適化と、適応癌種の拡大を行う。

粒子サイズを大きくすることで細胞への親和性が大きく向上していることが明らかとなった。これは、細胞膜上の受容体とリポソーム上のリガンドがより多価の結合が可能となっていると考えられる。

また、製剤化においては目的とする粒子サイズへの制御を可能とする連続式製造法の確立に成功した。

## F . 健康危険情報

特になし

## G . 研究発表

## 1. 論文発表

- 1) Kibria G, Hatakeyama H, Harashima H. "Cancer multidrug resistance: mechanisms involved and strategies for circumvention using a drug delivery system." *Archives of Pharmacol Research*, 37(1): 4-15 (2014)
- 2) Sakurai Y, Hatakeyama H, Sato Y, Hyodo M, Akita H, Ohga N, Hida K, Harashima H.  
"RNAi-mediated gene knockdown and anti-angiogenic therapy of RCCs using a cyclic RGD-modified liposomal-siRNA system." *Journal of Controlled Release*, 173:110-118 (2014)
- 3) Akhter A, Hayashi Y, Sakurai Y, Ohga N, Hida K, Harashima H.  
"A liposomal delivery system that targets liver endothelial cells based on a new peptide motif present in the ApoB-100 sequence." *International Journal of Pharmaceutics*, 456(1): 195-201 (2013)
- 4) Kibria G, Hatakeyama H, Ohga N, Hida K, Harashima H. "The effect of liposomal size on the targeted delivery of doxorubicin to Integrin  $\alpha\beta3$ -expressing tumor endothelial cells." *Bio-materials*. 34(22): 5617-5627 (2013)
- 5) 櫻井遊, "核酸医薬の現状と創薬のパラダイムシフト" *道薬誌*, 30 巻

12号: 4-10 ページ 2013年

- 6) Takara K\*, Hatakeyama H\*, Kibria G, Ohga N, Hida K, Harashima H. "Size-controlled, dual-ligand modified liposomes that target the tumor vasculature show promise for use in drug-resistant cancer therapy." *Journal of Controlled Release*, 161(1): 225-232 (2012)  
\*Equally contribution

(2013年10月で研究代表者の変更があったため、畠山と櫻井、両者の成果について記載している。)

## 2. 学会発表

- 1) 櫻井遊, 畠山浩人, 兵藤守, 秋田英万, 原島秀吉 "腫瘍血管内皮細胞標的型 siRNA デリバリーシステムの構築", 日本薬剤学会第28年会, 2013年5月23-25日、ウインクあいち、名古屋
- 2) Hakeyama H et al., "Development of a pH-sensitive multifunctional envelope-type nano device (MEND) as an efficient nucleic acids delivery system", July 21-24 2013, Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, U.S.A
- 3) 畠山浩人, 高良和宏, キブリアゴラム, 大賀則孝, 樋田京子, 原島秀吉. 腫瘍血管内皮を標的とした Dual-ligand リポソームの開発. 日本薬剤学会第27年会. 2012年6月26日. 神戸(神戸国際会議場、兵庫県) (口頭発表)

- 4) 畠山浩人、原島秀吉．薬物をがん細胞・血管内皮細胞へ送り分ける DDS の開発．第 28 回日本 DDS 学会学術集会．2012 年 7 月 5 日．札幌（札幌コンベンションセンター）（招待講演）
- 5) Hatakeyama H, Takara K, Kibria G, Ohga N, Hida K, Harashima H. Size-controlled, dual-ligand modified liposomes that target the tumor vasculature show promise for use in drug-resistant cancer therapy. 39th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2012 年 7 月 15-18 日. Québec City, Canada. Québec des congrés de Québec. （口頭発表）
- 6) Kibria G, Hatakeyama H, Ohga N, Hida K, Harashima H. Tumor Vasculature Targeted Size Controlled PEGylated Liposomal Delivery System to Treat Chemotherapy Resistant Renal Cell Carcinoma. 39th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2012 年 7 月 15-18 日. Québec City, Canada. Québec des congrés de Québec（ポスター発表）
- （2013 年 10 月で研究代表者の変更があったため、畠山と櫻井、両者の成果について記載している。）
- H．知的財産権の出願・登録状況  
本調製法に関しては、特許の出願に関して、本学の知財部と協議中である。

書籍  
該当なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kibria G, Hatakeyama H, Harashima H.	Cancer multidrug resistance: mechanisms involved and strategies for circumvention using a drug delivery system.	Archives of Pharmacal Research	37 巻 1 号	4-15	2014 年
Sakurai Y, Hatakeyama H, Sato Y, Hyodo M, Akita H, Ohga N, Hida K, Harashima H.	RNAi-mediated gene knockdown and anti-angiogenic therapy of RCCs using a cyclic RGD-modified liposomal-siRNA system.	Journal of Controlled Release	173 巻	110-118	2014 年
Akhter A, Hayashi Y, Sakurai Y, Ohga N, Hida K, Harashima H.	A liposomal delivery system that targets liver endothelial cells based on a new peptide motif present in the ApoB-100 sequence.	International Journal of Pharmaceutics	456 巻 1 号	195-201	2013 年
Kibria G, Hatakeyama H, Ohga N, Hida K, Harashima H.	The effect of liposomal size on the targeted delivery of doxorubicin to Integrin $\alpha$ 3-expressing tumor endothelial cells.	Biomaterials	34 巻 22 号	5617-5627	2013 年
櫻井遊	核酸医薬の現状と創薬のパラダイムシフト	道薬誌	30 巻 12 号	4-10	2013 年
Takara K, Hatakeyama H, Kibria G, Ohga N, Hida K, Harashima H.	Size-controlled, dual-ligand modified liposomes that target the tumor vasculature show promise for use in drug-resistant cancer therapy	Journal of Controlled Release	161 巻 1 号	225-232	2012 年

