

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) DDS 技術を基盤とした革新的がん治療法の開発  
(英語) Development of innovative methods for cancer therapy based on DDS
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所  
教授 西山伸宏
- 所属 役職 氏名： (英語) Laboratory for Chemistry and Life Science,  
Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology,  
Professor, Nobuhiro Nishiyama
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) がん細胞の増殖・進展・転移に係るネットワークを撃滅するための DDS の  
開発
- 開発課題名： (英語) Development of DDS to destroy network relating to proliferation,  
progression and metastasis of cancer cells
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所  
教授 西山伸宏
- 所属 役職 氏名： (英語) Laboratory for Chemistry and Life Science,  
Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology,  
Professor, Nobuhiro Nishiyama
- 分担研究 (日本語) がんの微小環境を標的とする薬剤および核酸医薬搭載ナノ DDS の開発
- 開発課題名： (英語) Development of nano-DDS incorporating drugs and nucleic acids for  
targeting cancer microenvironment
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター  
センター長 片岡一則
- 所属 役職 氏名： (英語) Kawasaki Institute of Industrial Promotion, Innovation Center of  
Nanomedicine, Director General, Kazunori Kataoka

分担研究 (日本語) 難治がん治療のための薬剤搭載ナノ DDS の開発  
開発課題名: (英語) Development of nano-DDS incorporating drugs for the treatment of intractable cancer  
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 大学院工学研究科 バイオエンジニアリング専攻 准教授 カブラル オラシオ  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Bioengineering, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, Associate Professor, Horacio Cabral

分担研究 (日本語) 難治がん治療に向けたユニット PIC 型核酸医薬送達システムの研究開発 -RNA 医薬  
開発課題名: (英語) Development of miRNA-loaded uPIC medicine against the refractory cancers  
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人岐阜大学 大学院連合創薬医療情報研究科 薬科学専攻 教授 赤尾幸博  
所属 役職 氏名: (英語) United Graduate School of Drug Discovery and Medical Information Sciences, Gifu University, Professor, Yukihiro Akao

分担研究 (日本語) TUG1 を標的としたユニット PIC 型核酸医薬送達システムの研究開発  
開発課題名: (英語) Development of antisense oligonucleotides targeting TUG1 coupled with unit polyion complex  
研究開発分担者 (日本語) 公立大学法人名古屋市立大学 大学院医学系研究科 助教 勝島啓佑  
所属 役職 氏名: (英語) Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University, Assistant Professor, Keisuke Katsushima

分担研究 (日本語) 胃がんにおける融合遺伝子を標的とした核酸医薬の創生  
開発課題名: (英語) Development of nucleic acid medicine targeting fusion gene in gastric cancer  
研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人がん研究会 がん化学療法センター 分子生物治療研究部 主任研究員 馬島哲夫  
所属 役職 氏名: (英語) Molecular Biotherapy, Cancer Chemotherapy Center, Japanese Foundation for Cancer Research, Senior Staff Scientist, Tetsuo Mashima

分担研究 (日本語) ミトコンドリア作用薬搭載ミセルの薬効評価・POC 取得  
開発課題名: (英語) Analysis of anti-tumor activity of mitochondria-targeted drugs that are encapsulated in micelles  
研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人がん研究会 がん化学療法センター ゲノム研究部 特任研究員 國政和宏  
所属 役職 氏名: (英語) Genome Research, Cancer Chemotherapy Center, Japanese Foundation for Cancer Research, Postdoctoral Scientist, Kazuhiro Kunimasa

分担研究 (日本語) PDX を用いた動物モデルの構築と新規 DDS の薬効評価  
開発課題名: (英語) Establishment of PDX mouse models for evaluation of novel nano-DDS  
研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人がん研究会 がん研究所 がん生物部 主任研究員  
高橋暁子  
公益財団法人がん研究会有明病院 総合腫瘍科部 部長 高橋俊二  
所属 役職 氏名: (英語) Cancer Biology, The Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer  
Senior Staff Scientist, Akiko Takahashi  
Medical Oncology Department, The Cancer Institute hospital for  
Japanese Foundation for Cancer Research, Department Director,  
Shunji Takahashi

分担研究 (日本語) 高磁場 MRI によるがん微小環境と薬効の in vivo 評価  
開発課題名: (英語) In vivo evaluation of tumor microenvironment and drug efficacy using  
high-field MRI  
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所  
チームリーダー 青木伊知男  
所属 役職 氏名: (英語) National Institute of Radiological Sciences (NIRS), QST,  
Team Leader, Ichio Aoki

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

本研究では、DDS、がん分子生物学、臨床腫瘍学の専門家による研究チームを形成し、緊密な連携によって、(1)最先端ナノ DDS と革新的評価系による画期的治療薬の開発、(2)がんの微小環境を標的とする革新的ナノ DDS の開発、(3)患者腫瘍由来異種移植片 (Patient-Derived Xenograft, PDX) によるナノ DDS の革新的評価法の確立、の 3 つの柱となる研究開発を行い、がんの根治を実現するための DDS 技術を基盤とした革新的がん治療法を開発することを目指している。本研究開発では、以下の①-⑨の分担研究課題より構成されており、それぞれの課題における研究成果の概要を以下に記載する。

分担研究課題①「がん細胞の増殖・進展・転移に係るネットワークを撃滅するための DDS の開発」では、1 分子の核酸分子を送達することができるユニット PIC 型核酸送達システムの効率的ながん組織への移行およびがん細胞による取り込みを実現するために、ペプチドをポリアミノ酸側鎖に導入した多価結合型リガンドを開発した。さらに、リガンド分子導入ユニット PIC を構築し、従来型ユニット PIC よりも優れた RNAi 活性が得られることを確認した。一方、ミトコンドリア作用薬を内包した高分子ミセルを開発し、がん細胞内の低 pH 環境に応答した薬剤リリース特性を明らかにした。

分担研究課題②「がんの微小環境を標的とする薬剤および核酸医薬搭載ナノ DDS の開発」では、研究チームの有する核酸医薬シーズを搭載するためのユニット PIC の最適化を行い、優れた血中滞留性を達成した。また、がんの微小環境における特異的代謝を標的としたリガンド分子導入高分子ミセルを構築し、がん幹細胞性を示す固形がんモデルの治療における有効性を明らかにした。

分担研究課題③「難治がん治療のための薬剤搭載ナノ DDS の開発」では、新たな分子設計によりミトコンドリア作用薬を内包した高分子ミセルを開発した。このミセルは、50nm のサイズでありながら、約 20% (w/w) のミトコンドリア作用薬を搭載することができ、低 pH 環境に応答した薬剤リリース特性を示すことを確認した。また、ミトコンドリア作用薬内包ミセルの *in vivo* 機能評価に向けて、腫瘍内および細胞内の一重項酸素を可視化する蛍光プローブを内包した高分子ミセルを開発した。

分担研究課題④「難治がん治療に向けたユニット PIC 型核酸医薬送達システムの研究開発-RNA 医薬」では、miR-143 および miR-145 の抗がん活性メカニズムを検討した結果、miR-143 は Ras ネットワークをシステムとして破綻させ、miR-145 は c-myc を標的にし、ワーバーグ効果を破綻させることによってアポトーシスを誘導することが示された。一方、膀胱がんの同所発がん、皮下移植がんモデルの治療において、miRNA 搭載ユニット PIC は、いずれのモデルに対しても少量の miRNA で著明な抗腫瘍効果を示すことを確認した。

分担研究課題⑤「TUG1 を標的としたユニット PIC 型核酸医薬送達システムの研究開発」では、脳腫瘍の中で最も高頻度に発生するきわめて悪性度の高い Glioblastoma (膠芽腫) に対して、長鎖非翻訳 RNA のひとつである TUG1 を標的とするアンチセンス核酸を搭載したナノ DDS の有効性を検証した。これに関連して、分担研究者の勝島らは、TUG1 が脳腫瘍幹細胞において高発現し、細胞の増殖や維持に関わることを見出している。脳腫瘍細胞株を同所移植したマウスモデルに対してアンチセンス核酸搭載ナノ DDS を静脈内投与したところ、腫瘍組織への選択的な集積効果と優れた抗腫瘍効果を示すことが確認された。

分担研究課題⑥「胃がんにおける融合遺伝子を標的とした核酸医薬の創生」では、我が国の胃がん患者腫瘍における当該融合遺伝子の関与を明らかにするため、がん研有明病院で診断した胃がん症例において融合遺伝子の有無を調べた結果、同融合遺伝子陽性例が見出された。また、融合遺伝子を標的とした薬剤の効果の評価するためには、同融合遺伝子を発現する胃がん培養細胞や *in vivo* モデルを用いた評価系の構築が必要であるため、胃がん患者 PDX から融合遺伝子陽性の安定培養細胞株を樹立した。以上のように、融合遺伝子を標的とした核酸搭載ナノ DDS の有効性を *in vitro* および *in vivo* において評価する系を確立することができた。一方で、融合遺伝子を標的とする siRNA の設計を進め、その合成を完了させた。

分担研究課題⑦「ミトコンドリア作用薬搭載ミセルの薬効評価・POC 取得」では、ヒト膵がん細胞株を用いて、ミトコンドリア作用薬のグルコース飢餓選択的な殺細胞効果を検証した。その結果、複数の化合物について、グルコース飢餓選択的に殺細胞効果を発揮することを見出した。その中で、グルコース飢餓選択性が最も高い化合物は、通常条件とグルコース飢餓条件下での IC<sub>50</sub> 値の比が、平均 50 倍以上であった。さらに、複数の化合物がミトコンドリア機能を抑制することを明らかにした。また、POC 取得の一環として、遺伝子発現変動パターンの変化や小胞体ストレス応答シグナルへの作用の解析を進めた。また、研究チーム内協力で作製したミトコンドリア作用薬搭載ミセルのグルコース飢餓選択的な殺細胞効果の評価を開始した。さらに、動物レベルでの薬効評価や POC 取得に向け、ミトコンドリア作用薬搭載ミセルの評価に用いるヒト膵がん PDX 由来細胞株の選定を開始した。

分担研究課題⑧「PDX を用いた動物モデルの構築と新規 DDS の薬効評価」では、既存の PDX モデルマウスの病理組織学的解析、遺伝子発現プロファイル解析やゲノム変異解析を進め、生体内のヒト膵がん組織の性質を最も忠実に再現 (腫瘍の多様性、間質の保持、微小環境の保有) していることが確認できた PDX ラインを選定し、膵がん PDX パネルを充実させた。また、免疫不全マウスを用いた継代移植法による PDX の維持には膨大な手間と費用がかかるため、継代移植法に加えて凍結保存法を導入し、樹立した PDX ラインの整備・保存を開始した。そして、PDX 腫瘍組織を凍結保存法によって

長期的・安定的に維持することが可能かどうかの検証を行った結果、凍結融解後の PDX 腫瘍組織においても患者腫瘍組織と同等の腫瘍形成能と腫瘍組織の組織型、多様性を維持していることが確認された。さらに、膝がん PDX モデルによるイメージングに基づく DDS 評価法の構築を開始した。

分担研究課題⑨「高磁場 MRI によるがん微小環境と薬効の in vivo 評価」では、高磁場 MRI において 50 $\mu$ m 以下の解像度の三次元イメージングで腫瘍内解析が出来るよう計測手法を最適化し、MnCaP ミセル造影剤による三次元腫瘍内評価を行った。低酸素環境が形成される腫瘍モデルを用いて、低 pH に反応して信号変化が再現性良く生じることを確認すると共に、腫瘍内微細環境を正しく反映しているか免疫組織学染色法との比較により再現性の確認を行った。担がんモデルにおいてがん微小環境の経時変化を追跡する手法の確立として、がん微小環境の変化を経時的に観察できるように、MRI の撮像コイル、撮像プロトコールなどを最適化した。

## 英文

In this project, we organized a research team by experts in DDS, cancer molecular biology, clinical oncology, and aim to develop innovative cancer treatment based on DDS technology to realize complete cancer cure by performing three major researches: (1) development of innovative therapeutic drugs using state-of-the-art nanoDDS and innovative evaluation system, (2) development of innovative nanoDDS that targets the microenvironment of cancer, (3) establishment of an innovative evaluation method of nanoDDS by using Patient-Derived Xenograft (PDX) model, through close collaboration. The project consists of the following research subjects ① - ⑨, and outlines of research results in each subject are described below:

In subject ① entitled "Development of DDS to destroy network relating to proliferation, progression and metastasis of cancer cells", we developed the unit polyion complex (unit PIC) type delivery system capable of delivering single molecule of nucleic acid medicine. In order to realize selective delivery to cancer tissue and efficient cellular uptake by cancer cells, we constructed a multivalent binding ligand, in which peptides were introduced into a side chain of poly(amino acids). Furthermore, we integrated a ligand molecule into unit PIC and revealed its superior RNAi activity to conventional unit PIC. On the other hand, we developed polymeric micelles encapsulating mitochondria-targeted drugs and clarified their drug release property in response to acidic pH environment in cancer cells.

In subject ② entitled "Development of nano-DDS incorporating drugs and nucleic acids for targeting cancer microenvironment", we optimized the unit PIC for delivering various nucleic acids provided by other groups in the research team. Consequently, we successfully obtained unit PIC with prolonged longevity in the blood stream. We also constructed polymeric micelles installed with ligand molecules for targeting specific metabolic pathway in the microenvironment of cancer tissues and demonstrated their remarkable antitumor activity solid tumor models of cancer stem cell-like cells.

In subject ③ entitled "Development of nano-DDS incorporating drugs for the treatment of intractable cancer", we developed polymer micelles encapsulating mitochondria-targeted drugs by new molecular design. It was confirmed that the micelles can load 20%(w/w) of

mitochondria-targeted drugs while showing the size of 50 nm and acidic pH-responsive drug release characteristics. We also developed polymeric micelles containing a fluorescent probe that visualizes singlet oxygen molecules in the tumor tissue and tumor cells for the in vivo evaluation of polymer micelles encapsulating mitochondria-targeted drugs.

In subject ④ entitled "Development of miRNA-loaded uPIC medicine against the refractory cancers", we investigated the mechanisms of the anticancer activity of miR-143 and miR-145, and demonstrated that miR-143 destroyed the Ras networks and miR-145 induced apoptosis by inhibiting the Warburg effect through targeting c-myc. In addition, we demonstrated that unit PIC delivering miRNA exhibited remarkable antitumor effects for the subcutaneously and orthotopically inoculated models of bladder cancer cells.

In subject ⑤ entitled "Development of antisense oligonucleotides targeting TUG1 coupled with unit polyion complex", we examined the therapeutic efficacy of nano DDS loaded with antisense nucleic acid (ASO) targeting TUG1, a long non-coding RNA highly expressed in brain tumor stem cells, against glioblastoma, which is the most intractable among brain tumors. As a result, we demonstrated selective tumor accumulation effect and remarkable antitumor efficacy of ASO-loaded nanoDDS in the orthotopically inoculated mouse model of glioblastoma cells after systemic administration.

In subject ⑥ entitled "Development of nucleic acid medicine targeting fusion gene in gastric cancer", we examined the gene fusion in the gastric cancer patient tissues that were diagnosed in our hospital to clarify the involvement of the fusion gene in Japanese gastric cancer. As a result, we identified the fusion gene-positive cases. For the evaluation of efficacy of the drugs targeting the fusion gene, we needed to obtain the fusion gene-positive gastric cancer cells available for cell culture and to establish an in vivo gastric tumor model. In this regard, we searched for the fusion gene-positive gastric cancer PDX lines and identified 2 gastric cancer PDX lines. We further established a gastric cancer PDX-derived cell expressing the fusion gene. Collectively, we successfully established the in vitro and in vivo system for the evaluation of nanoDDS delivering nucleic acids targeting the fusion gene. Besides, we designed siRNAs that could suppress the fusion gene expression.

In subject ⑦ entitled "Analysis of anti-tumor activity of mitochondria-targeted drugs that are encapsulated in micelles", we evaluated glucose deprivation-selective cytotoxicity of mitochondria-targeted drugs by using human pancreatic cancer cell lines. We found that several drugs exhibited preferential cytotoxicity during glucose deprivation. The  $IC_{50}$  ratios (normal/glucose-starved conditions) of the representative drug were more than 50-fold on average. We also confirmed that the identified drugs inhibited mitochondrial functions at both cellular and molecular levels. To establish the proof of concept (POC), we have been analyzing changes in gene-expression signatures and markers of unfolded protein response under glucose-starved conditions. Besides, we started to evaluate the glucose deprivation-selective cytotoxicity of mitochondria-targeted drug-encapsulated micelles that were developed by other groups in the research team. Also, we started to examine suitable cell lines derived directly from patients with pancreatic cancers for the

evaluation of mitochondria-targeted drugs and their micelles.

In subject ⑧ entitled "Establishment of PDX mouse models for evaluation of novel nano-DDS", we have performed the histopathological, transcriptome and next-generation sequencing analysis of patient-derived xenografts (PDX) mouse models established in our institute, thereby selecting some pancreatic PDX lines which retained the gene expression profiles, tumor heterogeneity, and histological characteristics of the original patient tumors. Additionally, since the propagation of PDX lines by serial transplantation into immunodeficient mice seems to be expensive and unpractical, we introduced cryopreservation in addition to successive transplantation, and started maintenance and preservation for these established PDX lines. We evaluated whether PDX lines could be maintained stably as a frozen stock. As a result, we demonstrated that the PDX tumors derived from frozen stocks retain the genetic and phenotypic heterogeneity typically seen in the patient tumors. Also, we started to set up new evaluation systems for nanoDDS by real-time in vivo imaging.

In subject ⑨ entitled "In vivo evaluation of tumor microenvironment and drug efficacy using high-field MRI" we developed an imaging method to evaluate the tumor microenvironment and applied it in a preclinical study using non-invasive and high spatial resolution magnetic resonance imaging (MRI). We optimized the MRI parameters and hardware to achieve a 50-micron isotropic resolution and performed 3D intratumoral evaluation using a contrast-enhanced method. We checked the reproducibility of the pH-responsive contrast agent and compared findings from MRI and immunostaining. In preparation of a longitudinal study of the tumor microenvironment, we optimized the RF coil settings and imaging protocol.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 5 件、国際誌 18 件)

1. 西山伸宏. ペプチドリガンドを搭載したドラッグデリバリーシステム(DDS)の創製. *生化学*. 2017, 89 (1), 39-43.
2. 西山伸宏. 微小環境を可視化するナノ DDS 造影剤 -DDS のコンパニオン診断の実現を目指して-. *ファルマシア*. 2016, 52 (11), 1025-1029.
3. 馬島哲夫. がん治療標的としてのがん幹細胞と標的薬剤の探索. *Yakugaku Zasshi.*, 2017, 137, 129-32.
4. 野口耕司, 馬島哲夫. がん分子標的治療の発展に貢献する薬学基礎研究～より有効な分子標的治療戦略のために～. *Yakugaku Zasshi.*, 2017, 137, 127-8.
5. 青木伊知男. MRI によるナノ・セラノスティクスとニトロキシル標識抗がん剤. *Yakugaku Zasshi.*, 2016, 136(8), 1087-91.
6. Huang CH, Takemoto H, Nomoto T, Tomoda K, Matsui M, Nishiyama N. Utility of the 2-nitrobenzenesulfonamide group as a chemical linker for enhanced extracellular stability and cytosolic cleavage in siRNA-conjugated polymer systems. *ChemMedChem*, 2017, 12 (1) 19-22.

7. Che Harun NF, Takemoto H, Nomoto T, Tomoda K, Matsui M, Nishiyama N. Artificial control of gene silencing activity based on siRNA conjugation with polymeric molecule having coil-globule transition behavior. *Bioconjugate Chem.*, 2016, 27 (9) 1961-1964.
8. Hayashi K, Chaya H, Fukushima S, Watanabe S, Takemoto H, Osada K, Nishiyama N, Miyata K, Kataoka K. Influence of RNA strand rigidity on polyion complex formation with block cationomers. *Macromol. Rapid Commun.*, 2016, 37 (6), 486-493.
9. Nishiyama N, Matsumura Y, Kataoka K. Development of polymeric micelles for targeting intractable cancers. *Cancer Sci.*, 2016, 107 (7), 867-874.
10. Naito M, Azuma R, Takemoto H, Horii M, Yoshinaga N, Osawa S, Kamegawa R, Kim HJ, Ishii T, Nishiyama N, Miyata K, Kataoka K. Multilayered polyion complexes with dissolvable silica layer covered by controlling densities of cRGD-conjugated PEG chains for cancer-targeted siRNA delivery. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2017, 印刷中
11. Chen Q, Osada K, Ge Z, Uchida S, Tockary TA, Dirisala A, Matsui A, Toh K, Takeda KM, Liu X, Nomoto T, Ishii T, Oba M, Matsumoto Y, Kataoka K. Polyplex micelle installing intracellular self-processing functionalities without free cationomers for safe and efficient systemic gene therapy through tumor vasculature targeting. *Biomaterials*, 2016, 113, 253-265.
12. Kinoh H, Miura Y, Chida T, Liu X, Mizuno K, Fukushima S, Morodomi Y, Nishiyama N, Cabral H, Kataoka K. Nanomedicines eradicating cancer stem-like cells in vivo by pH-triggered intracellular cooperative action of loaded drugs. *ACS Nano*, 2016, 10 (6), 5643-5655.
13. Matsumoto Y, Nichols JW, Toh K, Nomoto T, Cabral H, Miura Y, Christie RJ, Yamada N, Ogura T, Kano MR, Matsumura Y, Nishiyama N, Yamasoba T, Bae YH, Kataoka K. Vascular bursts enhance permeability of tumour blood vessels and improve nanoparticle delivery. *Nature Nanotechnol.*, 2016, 11, 533-538.
14. Wang M, Miura Y, Tsuchihashi K, Miyano K, Nagano O, Yoshikawa M, Tanabe A, Makino J, Mochida Y, Nishiyama N, Saya H, Cabral H, Kataoka K. Eradication of CD44-variant positive population in head and neck tumors through controlled intracellular navigation of cisplatin-loaded nanomedicines. *J. Control. Release*, 2016, 230, 26-33.
15. Wu H, Tao A, Martin JD, Quader S, Liu X, Takahashi K, Hespel L, Miura Y, Hayakawa Y, Irimura T, Cabral H, Kataoka K. Proteasome inhibitor loaded micelles enhance antitumor activity through macrophage reprogramming by NF- $\kappa$ B inhibition. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 印刷中
16. Quader S, Liu X, Chen Y, Mi P, Chida T, Ishii T, Miura Y, Nishiyama N, Cabral H, Kataoka K. cRGD peptide-installed epirubicin-loaded polymeric micelles for effective targeted therapy against brain tumors. *J. Control. Release.*, 2017, 印刷中
17. Minami K, Taniguchi K, Sugito N, Kuranaga Y, Inamoto T, Takahara K, Takai T, Yoshikawa Y, Kiyama S, Akao Y, Azuma H. MiR-145 negatively regulates Warburg effect by silencing KLF4 and PTBP1 in bladder cancer cells. *Oncotarget.*, 2017, 印刷中
18. Takai T, Yoshikawa Y, Inamoto T, Minami K, Taniguchi K, Sugito N, Kuranaga Y, Shinohara H, Kumazaki M, Tsujino T, Takahara K, Ito Y, Akao Y, Azuma H. A novel combination RNAi toward Warburg effect by replacement with miR-145 and silencing of PTBP1 induces apoptotic cell death in bladder cancer cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, 18(1), E179.



19. Sugiyama T, Taniguchi K, Matsushashi N, Tajirika T, Futamura M, Takai T, Akao Y, Yoshida K. MiR-133b inhibits growth of human gastric cancer cells by silencing pyruvate kinase muscle-splicer polypyrimidine tract-binding protein 1. *Cancer Sci.*, 2016, 107(12), 1767-1775.
20. Katsushima K, Natsume A, Ohka F, Shinjo K, Hatanaka A, Ichimura N, Sato S, Takahashi S, Kimura H, Totoki Y, Shibata T, Naito M, Kim HJ, Miyata K, Kataoka K, Kondo Y. Targeting the Notch-regulated non-coding RNA TUG1 for glioma treatment. *Nature Commun.*, 2016, 7, 13616.
21. Suenaga M, Mashima T, Kawata N, Wakatsuki T, Horiike Y, Matsusaka S, Dan S, Shinozaki E, Seimiya H, Mizunuma N, Yamaguchi K, Yamaguchi T. Serum VEGF-A and CCL5 levels as candidate biomarkers for efficacy and toxicity of regorafenib in patients with metastatic colorectal cancer. *Oncotarget*. 2016, 7, 34811-23.
22. Tanaka N, Mashima T, Mizutani A, Sato A, Aoyama A, Gong B, Yoshida H, Muramatsu Y, Nakata K, Matsuura M, Katayama R, Nagayama S, Fujita N, Sugimoto Y, Seimiya H. APC mutations as a potential biomarker for sensitivity to tankyrase inhibitors in colorectal cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2017, 16, 752-62.
23. Araki T, Murayama S, Usui K, Shimada T, Aoki I, Karasawa S. Self-assembly behavior of emissive urea benzene derivatives enables heat-induced accumulation in tumor tissue. *Nano Lett.*, 2017, 17(4), 2397-2403.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 高分子ミセル型ナノマシンが拓く未来医療, 招待講演, 西山伸宏, 第 63 回日本実験動物学会総会, 2016/5/19, 国内
2. Programmed siRNA release based on  $\alpha$ -oxohydrazone chemistry for polyion complex-based siRNA delivery system, ポスター, Wang C, Takemoto H, Nishiyama N, 第 65 回高分子学会年次大会, 2016/5/27, 国内
3. Development of thermoresponsive polymer-siRNA conjugates for controlled RNAi activity, 口頭, Che Harun NFB, Takemoto H, Nomoto T, Nishiyama N, 2016/5/26, 国内
4. 高分子ミセル型ナノ医薬品の開発-アカデミアからの取り組み-, 口頭, 西山伸宏, 第 32 回日本 DDS 学会学術大会, 2016/7/1, 国内
5. 高分子ナノテクノロジーを基盤とする革新的がん診断・治療システムの創出, 招待講演, 西山伸宏, 第 51 回天然物化学談話会, 2016/7/6, 国内
6. Development of siRNA-conjugated polymer with coil-globule transition behavior for an artificially controlled gene silencing activity, 口頭, Che Harun NFB, Takemoto H, Nomoto T, Tomoda K, Matsui M, Nishiyama N, 第 65 回高分子討論会, 2016/9/16, 国内
7. A novel design of polyion complex (PIC) with the pyruvate-reactive function toward enhanced cytosolic release of siRNA, 口頭, Wang C, Takemoto H, Nomoto T, Tomoda K, Matsui M, Nishiyama N, 第 65 回高分子討論会, 2016/9/15, 国内
8. 高分子ミセルにおける内核構造の安定性の差異がもたらす腫瘍集積性に関する考察, ポスター, キム ジュンヒョン, 武元 宏 泰, 野本 貴大, 松井 誠, 友田 敬士郎, 西山 伸宏, 第 65 回高分子討論会, 2016/9/15, 国内

9. がんへの薬剤の集積状態をレポートするナノメディシンの開発, ポスター, 孫 小行, 武元 宏泰, 野本 貴大, 友田 敬士郎, 松井 誠, 西山 伸宏, 第 65 回高分子討論会, 2016/9/16, 国内
10. 高分子ナノテクノロジーを基盤とした革新的ナノ診断・治療システムの開発, 招待講演, 西山伸宏, 日本薬物動態学会 第 31 回年会, 2016/10/15, 国内
11. 精密合成高分子材料を基盤するがん診断・治療ナノマシンの創製, 招待講演, 西山伸宏, 科研費新学術領域「分子ロボティクス」公開シンポジウム, 2016/10/25, 国内
12. シロキサンネットワークにて形成される siRNA 内包有機-無機ハイブリッドナノ粒子の開発, ポスター, 武元宏泰, 宮田完二郎, 林光太朗, 持田祐希, 片岡一則, 西山伸宏, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016, 2016/11/22, 国内
13. がん細胞内にて特異的に切断される Linker を利用した siRNA 送達キャリアの開発, ポスター, 越後真梨那, 武元宏泰, 林光太朗, 宮田完二郎, 金澤秀子, 片岡一則, 西山伸宏, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム, 2016, 2016/11/22, 国内
14. Novel glutamine-based polymeric ligand for transporter-mediated tumor targeting, ポスター, Yamada N, Honda Y, Takemoto H, Nomoto T, Matsui M, Tomoda K, Nishiyama N, 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo (ICBS2016), 2016/11/28, 国内
15. Development of supramolecular nanodevices for cancer diagnostics and therapy, 招待講演, Nishiyama N, The Korean Academy of Science and Technology (KAST) Symposium for Young Scientists in Drug Delivery: Redirecting the Research Field, 2016/12/8, 国外
16. 2-Nitrobenzensulfonamide groups as a chemical linker with enhanced extracellular stability and redox-sensitive cleavability for siRNA-conjugated polymer system, 口頭, Huang C-H, Takemoto H., Nomoto T, Tomoda K, Matsui M, Nishiyama N, The 11th SPSJ International Polymer Conference (IPC2016), 2016/12/14, 国内
17. Development of smart polymers and nanodevices for innovative medicine, 招待講演, Nishiyama N, International Symposium on Materials for Chemistry and Engineering (IMCE2017), 2017/2/3, 国内
18. Development of polymer-based nanodevices for innovative medicine, 口頭, Nishiyama N, Snowbird Symposium for Dr. Kopecek, 2017/2/17, 国外
19. Inhibition of lymph node metastasis and effective treatment of head and neck squamous cell carcinoma via cyclic-RGD mediated delivery of cisplatin-loaded micelles, ポスター, 宮野一樹, 三浦裕, 松本有, 岩田要, 佐谷秀行, 宮園浩平, 西山伸宏, Cabral H, 山嵜達也, 片岡一則, 第 16 回東京大学生命科学シンポジウム, 2016/04/23, 国内.
20. がんを標的とした 1 分子の siRNA からなるポリイオンコンプレックスの調製, ポスター, 林光太朗, 渡邊秀美代, 茶谷洋行, 藤加珠子, 野本貴大, 松本有, 福島重人, 長田健介, 西山伸宏, 宮田完二郎, 片岡一則, 遺伝子・デリバリー研究会第 16 回シンポジウム, 2016/05/16, 国内.
21. Smart targeted therapy by self-assembled supramolecular nanosystems, 基調講演, Kataoka K, 10th World Biomaterials Congress, 2016/05/19, 国外.
22. Polymeric micelles: From a rational design to clinical development, 総会講演, Kataoka K, 11th International Symposium on Polymer Therapeutics (ISPT): From Laboratory to Clinical Practice, 2016/05/23, 国外.
23. リガンド導入 PEG 化金ナノ粒子のリガンド認識能向上を目指した表面設計, ポスター, 内藤瑞, 石井武彦, 宮田完二郎, 安楽泰孝, Y. Yi, 神保琢夫, 高江誓詞, 福里優, 堀真緒, 長田健介, 片岡一則, 第 65 回高分子学会年次大会, 2016/05/25, 国内.

24. 環状 RGD ペプチドを修飾した白金制がん剤内包ミセルのがん幹細胞治療への応用, ポスター, 持田祐希, Wang M, Cabral H, 三浦裕, 西山伸宏, 片岡一則, 第 65 回高分子学会年次大会, 2016/05/25, 国内.
25. 鎖の硬さが異なる RNA とブロック共重合体とのポリイオンコンプレックス形成挙動, 口頭, 林光太朗, 茶谷洋行, 福島重人, 渡邊秀美代, 武元宏泰, 長田健介, 西山伸宏, 宮田完二郎, 片岡一則, 第 65 回高分子学会年次大会, 2016/05/27, 国内.
26. 難治性頭頸部扁平上皮癌に対するリガンド搭載シスプラチンミセルによる治療戦略, ポスター, 宮野一樹, 三浦裕, 松本有, 岩田要, 佐谷秀行, 宮園浩平, 西山伸宏, Cabral H, 山嵜達也, 片岡一則, 第 32 回 DDS 学会学術大会, 2016/06/30, 国内.
27. リガンド搭載高分子ナノ粒子を用いた腫瘍組織特異的核酸デリバリー, 口頭, 宮田完二郎, 内藤瑞, 林光太朗, 武元宏泰, Yi Y, Kim HJ, 片岡一則, 第 32 回 DDS 学会学術大会, 2016/06/30, 国内.
28. 1 分子の siRNA を含むポリイオンコンプレックスの調製, ポスター, 林光太朗, 茶谷洋行, 福島重人, 渡邊秀美代, 武元宏泰, 長田健介, 西山伸宏, 宮田完二郎, 片岡一則, 第 32 回 DDS 学会学術大会, 2016/06/30, 国内.
29. Self-assembled supramolecular nanosystems for smart targeted therapy of intractable diseases, 総会講演, Kataoka K, International Symposium on Polymer and Related Materials, 2016/07/10, 国外.
30. Self-assembled supramolecular nanosystems for smart targeted therapy of intractable diseases, 総会講演, Kataoka K, BICS Opening Symposium, 2016/08/31, 国外.
31. Drug and gene delivery by self-assembled supramolecular nanosystems, 特別講演, Kataoka K, 2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016), 2016/09/05, 国外.
32. siRNA とブロック共重合体とのイオン性会合体における会合数の制御, ポスター, 林光太朗, 福島重人, 渡邊秀美代, 武元宏泰, 長田健介, 西山伸宏, 宮田完二郎, 片岡一則, 第 65 回高分子討論会, 2016/09/15, 国内.
33. 環状 RGD ペプチドを修飾した白金制がん剤内包高分子ミセルを用いたリンパ節転移/治療抵抗性がんの治療, 口頭, 持田祐希, Cabral H, 牧野惇, 三浦裕, Wang M, 西山伸宏, 片岡一則, 第 65 回高分子討論会, 2016/09/16, 国内.
34. Self-assembled supramolecular nanosystems for smart targeted therapy of intractable diseases, 総会講演, Kataoka K, The First International Society for Nanomedicine Congress (1st ISNM), 2016/09/29, 国外.
35. Self-assembled supramolecular nanosystems for smart targeted therapy of intractable diseases, 総会講演, Kataoka K, ICREA Conference on Functional Nanocontainers, 2016/10/18, 国外.
36. Self-assembled supramolecular nanosystems for targeting therapy of intractable diseases, 総会講演, Kataoka K, 17th International Biotechnology Symposium and Exhibition(IBM 2016), 2016/10/27, 国外.
37. pH-Activatable targeted nanomedicine eradicates orthotopic mesothelioma bearing recalcitrant cancer stem cell sub-population, ポスター, Kinoh H, Miura Y, Fukushima S, Cabral H, Kataoka K, 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo(ICBS2016), 2016/11/28, 国外.
38. Effective treatment of locally advanced head and neck squamous cell carcinoma bearing cancer stem-like cells by cRGD peptide-installed cisplatin-loaded micelles, ポスター, Miyano K, Cabral H, Miura Y, Matsumoto Y, Kinoh H, Nishiyama N, Yamasoba T, Kataoka K, 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo(ICBS2016), 2016/11/28, 国内.

39. Supramolecular nanosystems for smart diagnosis and therapy of intractable diseases, 基調講演, Kataoka K, 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo(ICBS2016), 2016/11/30, 国内.
40. Nanomedicine strategies for enhancing efficacy against head and neck squamous cell carcinoma bearing cancer stem-like cells, ポスター, Cabral H, Miyano K, Wang M, Miura Y, Matsumoto Y, Kinoh H, Nishiyama N, Yamasoba T, Kataoka K, Frontiers2016 - Joint Symposium of the EPFL and the University of Tokyo, 2016/12/06, 国内.
41. ユニット PIC/金ナノ粒子ハイブリッドナノキャリアによるがん標的 siRNA デリバリー, 口頭, 宮田完二郎, 内藤瑞, Yi Y, Kim HJ, 片岡一則, 横浜市開港記念会館、横浜市、神奈川県, 第 26 回日本 MRS 年次大会, 2016/12/19, 国内.
42. Supramolecular nanosystems for smart diagnosis and therapy of intractable diseases, 総会講演, Kataoka K, 11th International Gel Symposium, Japan (GelSympo2017), 2017/03/08, 国内.
43. ミン結合を介して生理活性物質を内包した pH 応答性高分子ミセルの細胞内送達の検討, ポスター, Tao A, Cabral H, Quader S, 片岡一則, 第 65 回高分子討論会, 2016/09/15, 国内.
44. Brain tumor targeting by cRGD peptide encircled polymeric micelles loaded with potent antiglioblastoma agent epirubicin, ポスター, Quader S, Liu X, Chen Y, Mi P, Chida T, Ishii T, Miura Y, Nishiyama N, Cabral H, Kataoka K, 3<sup>rd</sup> International Conference on Biomaterials Science in Tokyo (ICBS2016), 2016/11/28, 国内.
45. Proteasome inhibitor loaded micelles enhance antitumor activity through macrophage reprogramming by NF- $\kappa$ B inhibition, ポスター, Martin JD, Cabral H, Wu H, Quader S, Tao A, Liu W, Mi P, Takahashi K, Hayakawa Y, Irimura T, Kataoka K, Proteasome inhibitor loaded micelles enhance antitumor activity through macrophage reprogramming by NF- $\kappa$ B inhibition, 3<sup>rd</sup> International Conference on Biomaterials Science in Tokyo (ICBS2016), 2016/11/28, 国内.
46. Proteasome inhibitor loaded micelles enhance antitumor activity through macrophage reprogramming by NF- $\kappa$ B inhibition, ポスター, Martin JD, Wu H, Tao A, Quader S, Liu X, Takahashi K, Hespel L, Miura Y, Hayakawa Y, Irimura T, Cabral H, Kataoka K, 11<sup>th</sup> Annual Symposium on Nanobiotechnology 2017,
47. Development of pH-sensitive polymeric micelles for intracellular delivery of bioactive molecules loaded through imine bond, ポスター, Tao A, Cabral H, Quader S, Kataoka K, 11<sup>th</sup> Annual Symposium on Nanobiotechnology 2017, 2017/02/27, 国内.
48. KRAS を標的にした RNA 創薬, 口頭, 赤尾幸博, 熊崎実南, 関口光明, 釘宮啓, 前川和彦, 北出幸夫, 日本核酸医薬学会 第 2 年会, 2016/11/15, 国内.
49. Targeting the Notch-regulated non-coding RNA, TUG1, as an effective treatment in glioma, ポスター, Katsushima K, Natsume A, Ohka F, Shinjo K, Ichimura N, Hatanaka A, Shibata T, Miyata K, Kataoka K, Kondo Y, The 35th Sapporo International Cancer Symposium, 2016/6/24, 国内.
50. Notch シグナルにより誘導される長鎖非翻訳 RNA TUG1 を標的としたグリオーマ治療薬の開発に関する研究, 口頭, 勝島啓佑, 夏目敦至, 大岡史治, 新城恵子, 市村典久, 畑中彬良, 柴田龍弘, 宮田完二郎, 片岡一則, 近藤豊, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/7, 国内.
51. がん幹細胞性と薬剤耐性の結びつきを検証する患者由来胃癌細胞モデル, ポスター, 川上 隆兵, 馬島哲夫, 右田敏郎, 熊谷厚志, 佐野武, 水沼信之, 山口研成, 清宮啓之, パシフィコ横浜, 2016/10/6, 国内.
52. Functional and Theranostic Contrast Agent, 口頭, Aoki I, 日本磁気共鳴医学会 JSMRM-KSMRM joint symposium, 2016/9/10, 国内.

53. Functional and Theranostic Contrast Agents for MRI, 口頭, Aoki I, The 18th Northeastern Asian Symposium on Molecular Imaging-based Precision Medicine, 2016/11/12, 国外.
54. 機能性 MRI 造影剤と腫瘍内の微小環境解析, 口頭, 青木伊知男, Medical Research Conference, 2017/1/25, 国内.
55. Approach to Multiscale Imaging using Micro-MRI and Functional Contrast Agents, 口頭, Aoki I, International Symposium on Multimodal Medical Engineering (MME), 2017/3/3, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ナノテクノロジーが拓く未来医療 -体内病院の実現を目指して-, 西山伸宏, 第 11 回 四大学連合文化講演会, 2016/10/28, 国内.
2. DDS による核酸医薬の有効性向上・毒性低減に向けて, 西山伸宏, 第 2 回神奈川県ヘルスケア・ニューフロティア講座 次世代医療に向けた医理工学融合研究とその産業応用, 2016/12/13, 国内.
3. DDS による核酸医薬の有効性向上・毒性低減に向けて, 西山伸宏, 第 2 回革新的バイオ研究開発シンポジウム, 2017/1/20, 国内.
4. キングスカイフロント夏の科学イベントにおける小中学生を対象とした体験学習の提供 (イベント名: ナノマシーンを体験しよう!), ナノ医療イノベーションセンター, 2016/8/4, 国内.
5. 川崎市立川崎高等学校附属中学校の生徒に対する体験学習、ナノ医療イノベーションセンター, 2017/3/9, 国内.
6. 高磁場 MRI による演習とクイズを実施, 福島と千葉の小学生親子サイエンスキャンプ, 2016.8.26, 国内, 量研機構・放医研.

(4) 特許出願

1. 国際出願 : PCT/JP2016/053960
2. 国際出願 : PCT/JP2016/84328