

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年6月20日現在

機関番号：82731
研究種目：特別推進研究
研究期間：平成25年度～平成29年度
課題番号：25000006
研究課題名（和文）脳内に核酸医薬を送達する高分子ミセルの創製と脳神経系難病の標的治療への展開
研究課題名（英文）Development of Polymeric Micelles for Brain-Targeted Delivery of Nucleic Acid Drugs to Treat Intractable Neurological Diseases
研究代表者
片岡 一則 (KATAOKA, Kazunori)
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
研究者番号：00130245
交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：447,100,000円

研究成果の概要（和文）：

脳は高度に発達した生体バリアに守られているため薬剤の送達が極めて困難な部位である。本研究では、この生体バリアを克服して核酸医薬を脳内に送達して機能させるウイルス・サイズの薬剤送達システムを、高分子材料の自己組織化（高分子ミセル化）に基づいて構築した。すなわち、(1) 血管内腔側内皮に局在するグルコース輸送タンパク質を標的とするグルコース結合型高分子ミセルを創製し、血管内腔からの脳内薬物移行を制限する内皮細胞バリア（血液脳関門）を突破して核酸医薬を脳内送達する事によって、アルツハイマー病（AD）の発症に関わる酵素の産生を抑制する事に成功した。(2) 生体内で速やかに酵素分解を受ける mRNA のミセル内包安定化を達成し、脳室内局所投与による単鎖抗体のその場産生を実現する事によって、AD 発症に関わるタンパク質であるアミロイド β 量を有意に低下出来る事を実証した。

研究成果の概要（英文）：

Since the brain is protected by a highly developed biological barrier, delivery of the drug is extremely difficult. In this research, we developed a drug delivery system (DDS) of virus size (<50 nm) that overcomes such a robust biological barrier, penetrates into the brain, and delivers nucleic acid drugs to target cells such as neurons. Here, DDS was constructed on the basis of self-assembly (polymeric micelle formation) of biocompatible block copolymers. In the vascular system of the brain, drug penetration from the vascular lumen to the brain parenchyma is markedly restricted (blood-brain barrier: BBB), since the junction between the endothelial cells is extremely tight. Therefore, a glucose-bound polymeric micelle targeting glucose transporter 1 (GLUT 1), which is localized in the vascular lumen side of cerebral vascular endothelial cells, was constructed. There was observed a significant accumulation of the micelles in the brain by crossing the BBB at about 60 times the efficiency of the existing DDS by the precise molecular design of the micelles, including size and surface glucose density, and the use of active migration of GLUT1 from the vascular luminal side to the brain parenchyma side, synchronizing with a change in the blood glucose concentration. Eventually, siRNA was successfully delivered into the brain by the glucose-conjugated micelles, and the expression of enzymes involved in amyloid β (A β) production was reduced to about 50%. Furthermore, mRNA, known to be fragile in biological milieu, was remarkably stabilized by micelle loading, and local intracerebroventricular administration of the micelles loaded with mRNA encoding single chain antibody targeting A β attained significant reduction of the amount of A β in mouse brain. In this way, wide on/off control of disease-related genes becomes feasible, opening a new avenue to solve long-standing problems in the treatment of neurodegenerative diseases.

研究分野：高分子化学、高分子材料、生体医用工学、ドラッグデリバリーシステム、バイオマテリアル

キーワード：ブロック共重合体、高分子ミセル、ポリエチレングリコール、ポリアミノ酸、薬物送達システム、血液脳関門（BBB）、siRNA、アンチセンス核酸、メッセンジャーRNA、プラスミドDNA、抗体医薬

1. 研究開始当初の背景

患者数が 20 万人を超えて増加の一途を辿っている脳神経系疾患の中で、アルツハイマー病(AD)等の分子メカニズムが解明されている疾患に対しては、核酸医薬による分子治療が特に有効である。しかし、この治療法の実現のためには、ニューロン等の標的細胞内へ核酸分子を導入し、機能発現させる事のできる核酸キャリアが必要不可欠である。一方、治療標的となる細胞が存在する脳は、高度に発達した生体バリア(血液脳関門:BBB)に守られているため、薬剤の送達が極めて困難な部位である事が知られており、その解決が喫緊の課題とされていた。

2. 研究の目的

本研究では、上記の課題を解決すべく、(1) 強固な生体バリアを克服して脳神経系に核酸医薬を送達するナノサイズの核酸キャリアを構築する事、(2) AD 等の脳神経系疾患の分子治療に対する核酸キャリアの有用性を実証する事、を目的に設定した。具体的には、両親媒性ブロック共重合体の自己組織化により形成される高分子ミセルを基盤に、「生体適合性」「標的指向性」「環境応答性」を完備した多機能核酸キャリア(図 1)の創製を推進した。

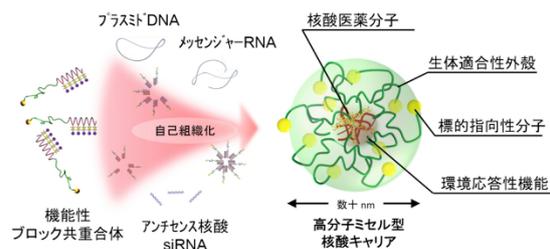


図 1. 機能性ブロック共重合体と核酸分子の自己組織化により形成される高分子ミセル型核酸キャリア

3. 研究の方法

研究代表者の統括のもと、分子設計グループ・機能評価グループ・展開研究グループを組織し、研究を推進した。分子設計グループは、血中滞留性と組織浸透性に優れる高分子ミセルの創製(生体適合性)、脳神経系細胞ターゲティング機能の創り込み(標的指向性)、細胞内バリアを克服して高い薬理活性を発揮する機能の創り込み(環境応答性)に注力して研究を進めた。機能評価グループは、分子設計グループより供給された高分子ミセルの培養細胞を用いた機能評価、動物を用いた血中滞留性や脳神経系への集積性評価等を実施した。展開研究グループは、治療用核酸の構造最適化と脳神経系への導入、さらにはモデル動物を対象とした検討と安全性試験を実施した。以上の取り組みを通じて、脳神経系への核酸送達に必要とされる分子機能および材料設計指針を明らかにし、脳神経系疾患の分子治療に向けた核酸送達技術の確立を行った。

4. 研究成果

① 生体適合性・標的指向性・環境応答性を備

えたプラットフォームミセルの構築: BBB を突破し、脳組織深部まで核酸を送達するためには、核酸キャリアの粒子径制御が重要である。そこで、small interfering RNA (siRNA) に代表される核酸医薬に関して、核酸の負電荷を過不足なく中和するポリカチオン鎖と親水性のポリエチレングリコール鎖からなるブロック共重合体を合成する事で、核酸とブロック共重合体 1 分子ずつからなる複合体(ユニットポリイオンコンプレックス: uPIC)を選択的に形成する条件を確立した[文献 10]。さらに、この uPIC をミセル化することで、②に後述する様に脳内送達に適した粒子径 50 nm 以下の均一なナノキャリアの構築を目指した。まず金ナノ粒子(直径 20 nm)上に uPIC を秩序高く配置させる事で、siRNA の血中半減期を 20 倍近く増大させる事に成功した[文献 24]。さらに、臨床応用の観点から金ナノ粒子を用いない方法論の確立が必要と考え、下限臨界共溶温度(LCST)を示す poly(2-n-propyl-2-oxazoline) (PPOx) を構成セグメントとする三元ブロック共重合体からなるキャリアシステムを開発した[文献 15]。すなわち、室温以下で uPIC を調製した後に昇温する事で、疎水化した PPOx をコアとする粒径 40nm の単分散 uPIC ミセルを得た。このミセルは優れた血中滞留性を示し、かつ③で後述する様に脳内に siRNA を送達出来る事が明らかとなった。これと並行して、細胞内エンドソームから効率良く siRNA を細胞質に送り込むために、エンドソーム内の酸性環境で負から正へと電荷反転する poly(aspartamide) 誘導体をミセル表層に配置したキャリアを構築した。この電荷反転型ミセルは効率的なエンドソーム膜傷害活性を惹起し、細胞に対する高い siRNA 導入効率を実現した[文献 16]。一方、siRNA のような剛直な 2 本鎖核酸に比べ、柔軟な 1 本鎖核酸を用いると、高分子ミセルの安定性が飛躍的に上昇した事から[文献 10]、1 本鎖であるアンチセンス核酸(ASO)のミセル封入についても検討を実施した。ここでは、ASO を封入した高分子ミセルコアへジスルフィド架橋を導入する事による安定化を狙い、ポリカチオンセグメント側鎖の一部に 2-iminothiolane を導入したブロック共重合体を合成し、ASO と混合する事によって、粒子径約 40 nm で単分散な高分子ミセルの調製に成功した。この ASO 内包ミセルはペプチドリガンドを表層に結合する事によって、全身投与で実験動物の脳腫瘍部位の BBB を効率良く通過し、高い治療効果達成した[文献 17]。さらに、③に後述する様に、グルコース結合体は AD モデルマウスの脳内にも到達し、標的遺伝子のサイレンシングにも成功している。

一方、長鎖核酸である pDNA についても、熱融解に伴う二重鎖の解離を利用することによって粒径 50 nm 以下の球状にパッケージングする手法を開発した。本手法で調製された高度凝縮型ミセルでは DNA の二重らせん構造が解離しているにも関わらず、十分な遺伝子

発現能力を維持している事が、培養細胞を用いた実験、及び膵臓がんを標的とした *in vivo* 全身投与実験において確認された[投稿中]。さらに、グルコースを表層に結合する事によって、脳血管内皮細胞での遺伝子発現にも成功している[投稿論文準備中]。また、細胞内高 ATP 環境やエンドドーム内低 pH 環境に应答して開裂するフェニルボロン酸エステル結合を用いてポリカチオンセグメント同士を架橋する事で、細胞外での安定性と細胞内動態制御の両立に基づく効率的遺伝子発現の達成に成功した[文献 2]。

mRNA については、柔軟な 1 本鎖構造であるため、粒径を 50 nm にする事は比較的容易であったが、一方で、mRNA が血液中で速やかに酵素分解を受ける事が大きな課題であった。そこで、ブロック共重合体に疎水性基を導入し、ミセルコアの疎水化による安定化を図った。結果、ブロック共重合体の ω -末端へのコレステロール基の導入により、静脈投与後の mRNA の血中滞留性が著明に向上した[文献 11]。続いて、前述の LCST を示す PPOx を中間セグメントに有する poly(2-ethyl-2-oxazoline)-PPOx-poly(L-lysine)三元ブロック共重合体について検討した。このポリマーからなる pDNA あるいは mRNA 内包ミセルは、PPOx セグメントを持たない PEtOx-PLys ブロック共重合体からのミセルに比べて酵素耐性が飛躍的に改善し、また、遺伝子の発現活性も明確に向上した[文献 15]。さらに細胞内において、mRNA からの翻訳過程がスムーズに進行するためには、(1) エンドドームから細胞質への高い移行効率、(2) 細胞質内での mRNA の安定性、(3) mRNA 末端の Cap 構造への翻訳開始因子 (eIF4E) の結合という 3 つのプロセスの最適化が必要である。まず、(1) と (2) に関しては、ブロック共重合体を構成する poly-aspartamide(PAsp)セグメント側鎖に導入するアミノエチレンユニット (-NHCH₂CH₂-)の繰り返し数を変えて検討を行った。その結果、エンドドームからの脱出を早めるには偶数回の繰り返しの方が優れるが、mRNA の細胞内酵素耐性を高めるには奇数回の繰り返しが良い事、また、その機構には側鎖アミノエチレンユニットのプロトン化度が密接に関わっている事を細胞内蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)等の手法で証明した[文献 25]。一方、(3) のプロセスに関しては、繰り返し数 1, 2 回のもものでは mRNA の Cap 構造に対する eIF4E の結合が阻害され、翻訳効率が低下するが、繰り返し数 3, 4 回のもものでは eIF4E の結合が阻害されず、翻訳効率が保たれる事を見出した[文献 13]。以上の様なポリカチオン構造の精緻な設計を通じ、繰り返し数 3 回のポリマーが、酵素耐性、翻訳効率の観点で優れており、実際、*in vivo* 投与においても、持続的かつ効率的な mRNA 発現が得られる事を確認した[文献 19]。

② 血液—脳関門(BBB)を通過する高分子ミセルの構造最適化と脳内分布の確認：脳血管

内皮細胞(BCEC)に最も多く発現する膜タンパク質であるグルコーストランスポーター (GLUT1)を標的とし、GLUT1 への結合に関与しない 6 位の OH 基を介してグルコースを結合した高分子ミセル(Gluc(6)/m)を中心に研究を展開した。まず、新規に作成した GLUT1 過剰発現 Neuro2A 細胞を用いた実験で、Gluc(6)/m が GLUT1 を介して細胞に取り込まれている事を実証した。続いて Gluc(6)/m のマウスへの全身投与を行った。ここで、一日の食止めにより血糖値を正常な範囲内で下げたマウス(100 mg/dL)にミセルを投与し、その後、血糖を上昇させる(160 mg/dL)と言う簡単な操作で、Gluc(6)/m を BBB を通過させて脳実質部に送り込めるという事実を見出した。ミセル表層の Gluc 密度や粒径を変化させた検討より、PEG 鎖の 25%にグルコースを結合させた 30 nm のミセルで脳への集積量は最大となり、脳 1g あたり投与量の 6%(dose/g-brain)という、従来の BBB 通過型キャリアの約 60 倍の値を達成した[文献 4]。さらに、*in vivo* 共焦点顕微鏡(IVRTCLSM)を用いる事によって、血糖値変化に連動して GLUT1 に結合した Gluc(6)/m が脳実質へ移行する様子をその場観察で捉える事に成功し、BCEC の管腔側に発現した GLUT1 が管腔側から実質側へ移動するリサイクリング機構によって Gluc(6)/m が脳実質側に能動的に輸送されるという事を世界で初めて明らかとした。また本研究で導入した 2 光子型 IVRTCLSM を用いる事によって、BBB を通過した Gluc(6)/m が脳の深部に至るまで分布している事を実証した(図 2(a))。さらに組織学的解析から、リガンド密度 25%のミセルは脳実質に移行した後、ニューロンに効率的に取り込まれる事を確認した(図 2(b))。一方、リガンド密度が高い 50%-Gluc(6)/m は、BCEC 内に集積する事が判明した。これはリガンド密度が高くなる事で GLUT1 との結合が強固となり過ぎ、BCEC 内に留まったためと想定され、表層のグルコース密度を変化させる事で、ミセルの脳内分布をも制御可能である事が明らかとなった[文献 4]。

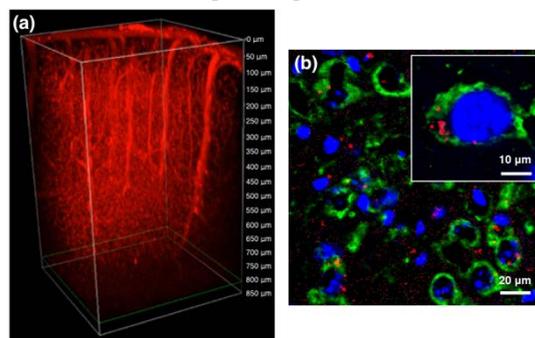


図 2(a) 脳の深部まで分布する 25%-Gluc(6)/m (赤). (b) ニューロン(緑)まで到達した Gluc(6)/m (赤) [文献 4].

③ 脳内に核酸医薬(siRNA, ASO)を送達し機能させる高分子ミセルの開発：①、②の結果を踏まえ、まずは siRNA 内包ミセルを用い、

ニューロンを標的とした脳内での標的遺伝子サイレンシングへと展開した。ここではニューロンにおいてアミロイド β ($A\beta$)産生に関わる酵素である β -secretase(BACE)の発現抑制を試みた。①で述べた PPOx を構成セグメントとする三元ブロック共重合体からなる siRNA キャリアシステムにグルコースを担持させて全身投与を行い、脳への集積性を調べたところ、グルコースリガンド密度 25%について効率的な脳への集積を認めた(図 3(a))。続いて、両末端にそれぞれ Alexa546(蛍光ドナー色素)と Alexa647(蛍光アクセプター色素)を導入した siRNA をこのミセル内に封入し、脳集積後の切片を共焦点顕微鏡で観察した。その結果、脳内において siRNA 由来の FRET が確認された。すなわち、siRNA が分解されずに intact な状態で脳へ送達されている事を強く支持する結果であり、これは脳内において siRNA からの FRET 観察に成功した初めての例である。また内因性 BACE1 の発現抑制効率を調べたところ、グルコース非担持ミセルでは、siRNA 活性が認められなかったのに対し、Gluc/m では、単回の投与だけで内因性マウス BACE1 の mRNA 発現を、最大で約 50%低下させた(図 3(b))。BACE1 はニューロン選択的に発現している事から、ニューロンにて siRNA 活性が得られた事が強く示唆される[特許出願済み・論文投稿中]。

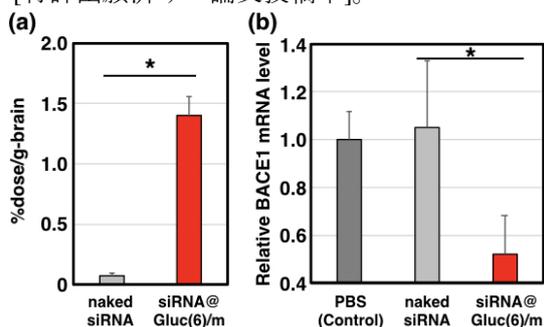


図 3(a) siRNA の脳内集積量。(b) BACE1 のサイレンシング活性。* $P < 0.05$

また神経細胞の発達や機能に関連する事が多く報告されており、脳内にユビキタスに発現する遺伝子である MALAT1 に対する ASO を封入した Gluc(6)/m についても、①で述べたジスルフィド結合導入ミセルを用いる事で、単回投与により MALAT1 の mRNA 発現量を最大で約 30%低下させる事にも成功した[特許出願済み・論文投稿準備中]。

④ 脳内への mRNA 導入による $A\beta$ 低減効果の確認：本研究を開始する時点においては、そもそも mRNA を脳内で機能させる事自体が前人未踏の研究課題であった。そこで、(1) 脳内環境で mRNA から有意なタンパク質翻訳が可能である事、(2) mRNA ミセルの脳室内直接投与によって AD の原因とされる $A\beta$ 量の減少を実証する事を目標として研究を推進した。まず、レポータータンパク質(ルシフェラーゼ)を発現する mRNA を用い、分子設計グループ

と展開研究グループ間の密接な連携によって、(1) の課題を解決するミセル構造の特定を行った。続いて、 $A\beta$ 分解酵素であるネプリライシン(NEP)を発現する mRNA を用い、構造を最適化したミセルに搭載して、マウス脳室内への局所投与を行ったところ、脳内の NEP 量が未投与群と比べ 1.5 倍に増加した。さらに、 $A\beta$ を脳室に投与したモデルマウスに対して、NEP mRNA を導入したところ、有意に脳内の $A\beta$ 量を低下させる事に成功した[文献 18]。続いて、 $A\beta$ 単体よりもはるかに神経毒性の高い $A\beta$ オリゴマーに対して選択的に結合する単鎖抗体(scFv)をファージディスプレイ法により単離し、線維化した $A\beta$ を効果的に解離出来る事を確認した。さらに、ヒトインターロイキン 2 由来の分泌シグナル配列を結合した scFv を発現する mRNA を作製し、哺乳類細胞からも効率的に scFv を分泌させる事に成功した。この分泌型 scFv mRNA をミセルに内包し、 $A\beta$ オリゴマーをあらかじめ脳室内に投与したモデルマウスの $A\beta$ 量を有意に低下出来る事を実証した[文献 7]。

⑤ まとめ：以上、本研究を通じて強固な生体バリアを克服して脳神経系に核酸医薬を送達するナノスケールのキャリアシステムを構築し、AD 等の脳神経系難治疾患の分子治療における有用性を実証する事が出来た。成果は *Nature Communications, J. Am. Chem. Soc., ACS Nano* 等に 61 件の原著論文として公表され、さらに、極く最近の成果数編については、国際的に高い評価を有する学術誌へ投稿中あるいは投稿準備中である。さらに、24 件の特許を出願し、内 1 件は既に成立している。この特許に基づき、Braizon Therapeutics 社 <<http://www.braizon.com/about/index.html>> が設立され、国内外の製薬企業との間で共同開発に向けた活動が開始される等、成果の社会実装も着実に進展しつつある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 61 件)

1. M. Naito, K. Miyata(6 番目), K. Kataoka(7 番目), 他 4 名 Enhanced intracellular delivery of siRNA by controlling ATP-responsivity of phenylboronic acid-functionalized polyion complex micelles. *Macromol. Biosci.* **18**(1) 1700357 (2018) (DOI: 10.1002/mabi.201700357)
2. N. Yoshinaga, T. Ishii(2 番目), S. Uchida(5 番目), K. Osada(7 番目), K. Kataoka(8 番目), 他 3 名 Polyplex micelles with phenylboronate/gluconamide crosslinking in the core exerting promoted gene transfection through spatiotemporal responsivity to intracellular pH and ATP concentration. *J. Am. Chem. Soc.* **139**(51) 18567-18575 (2017) (DOI: 10.1021/jacs.7b08816)

3. K. Lee, K. Kataoka(19 番目), 他 20 名 Nanoparticle delivery of Cas9 ribonucleoprotein and donor DNA in vivo induces homology-directed DNA repair. *Nature Biomed. Eng.* **1**(11) 889-901 (2017) (DOI: 10.1038/s41551-017-0137-2)
4. Y. Anraku(1 番目), T. Ishii(5 番目), Y. Matsumoto(7 番目), K. Miyata(9 番目), S. Uchida(10 番目), K. Osada(12 番目), K. Itaka(13 番目), N. Nishiyama(14 番目), T. Yokota(17 番目), K. Kataoka(18 番目), 他 8 名 Glycaemic control boosts glycosylated nanocarrier crossing the BBB into the brain. *Nature Commun.* **8** 1001 (2017) (DOI: 10.1038/s41467-017-00952-3)
5. S. Osawa, T. Ishii(2 番目), K. Osada(4 番目), K. Kataoka(5 番目), 他 1 名 A facile amino-functionalization of poly(2-oxazoline)s' distal end through sequential azido end-capping and Staudinger reactions. *Eur. Polym. J.* **88** 553-561 (2017) (DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2016.11.029)
6. K. M. Takeda, K. Osada(7 番目), K. Kataoka(8 番目), 他 5 名 Effect of shear stress on structure and function of polyplex micelles from poly(ethylene glycol)-poly(L-lysine) block copolymers as systemic gene delivery carrier. *Biomaterials* **126** 31-38 (2017) (DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.02.012)
7. F. Perche, S. Uchida(2 番目), K. Itaka(8 番目), K. Tsumoto(9 番目), K. Kataoka(10 番目), 他 5 名 Improved brain expression of anti-amyloid β scFv by complexation of mRNA including a secretion sequence with PEG-based block cationer. *Curr. Alzheimer Res.* **14**(3) 295-302 (2017) (DOI: 10.2174/1567205013666161108110031)
8. K. M. Takeda, K. Osada(2 番目), K. Kataoka(6 番目), 他 3 名 Poly(ethylene glycol) crowding as critical factor to determine pDNA packaging scheme into polyplex micelles for enhanced gene expression. *Biomacromolecules* **18**(1) 36-43 (2017) (DOI: 10.1021/acs.biomac.6b01247)
9. C.-Y. Lin, S. Uchida(4 番目), K. Kataoka(5 番目), K. Itaka(6 番目), 他 2 名 Messenger RNA-based therapeutics for brain diseases: An animal study for augmenting clearance of beta-amyloid by intracerebral administration of neprilysin mRNA loaded in polyplex nanomicelles. *J. Control. Release* **235** 268-275 (2016) (DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.06.001)
10. K. Hayashi, K. Osada(6 番目), N. Nishiyama(7 番目), K. Miyata(8 番目), K. Kataoka(9 番目), 他 4 名 Influence of RNA strand rigidity on polyion complex formation with block cationers. *Macromol. Rapid Commun.* **37**(6) 486-493 (2016) (DOI: 10.1002/marc.201500661) (*Back Cover*)
11. S. Uchida(1 番目), T. Ishii(3 番目), K. Osada(8 番目), K. Itaka(9 番目), K. Kataoka(10 番目), 他 5 名 Systemic delivery of messenger RNA for the treatment of pancreatic cancer using polyplex nanomicelles with a cholesterol moiety. *Biomaterials* **82** 221-228 (2016) (DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.12.031)
12. T. A. Tockary, K. Osada(2 番目), K. Kataoka(9 番目), 他 6 名 Rod-to-globule transition of pDNA/PEG-Poly(L-lysine) polyplex micelles induced by a collapsed balance between DNA rigidity and PEG crowdedness. *Small* **12**(9) 1193-1200 (2016) (DOI: 10.1002/smll.201501815) (*Back cover*)
13. H. Uchida, K. Itaka(2 番目), S. Uchida(3 番目), T. Ishii(4 番目), K. Miyata(6 番目), N. Nishiyama(8 番目), K. Kataoka(9 番目), 他 2 名 Synthetic polyamines to regulate mRNA translation through the preservative binding of eukaryotic initiation factor 4E to the cap structure. *J. Am. Chem. Soc.* **138**(5) 1478-1481 (2016) (DOI: 10.1021/jacs.5b11726)
14. T. Ishii(1 番目), K. Miyata(2 番目), Y. Anraku(3 番目), K. Osada(10 番目), K. Kataoka(11 番目), 他 6 名 Enhanced target recognition of nanoparticles by cocktail PEGylation with chains of varying lengths. *Chem. Commun.* **52**(7) 1517-1519 (2016) (DOI: 10.1039/C5CC06661A)
15. S. Osawa, K. Osada(2 番目), T. Ishii(5 番目), K. Kataoka(6 番目), 他 2 名 Polyplex micelles with double-protective compartments of hydrophilic shell and thermo-switchable palisade of poly(oxazoline)-based block copolymers for promoted gene transfection. *Biomacromolecules* **17**(1) 354-361 (2016) (DOI: 10.1021/acs.biomac.5b01456)
16. M. Tangsangasakri, N. Nishiyama(10 番目), K. Miyata(11 番目), K. Kataoka(12 番目), 他 8 名 siRNA-loaded polyion complex micelle decorated with charge-conversional polymer tuned to undergo stepwise response to intra-tumoral and intra-endosomal pHs for exerting enhanced RNAi efficacy. *Biomacromolecules* **17**(1) 246-255 (2016) (DOI: 10.1021/acs.biomac.5b01334)
17. K. Katsushima, K. Miyata(14 番目), K. Kataoka(15 番目), 他 13 名 Targeting the notch-regulated non-coding RNA TUG1 for glioma treatment. *Nature Commun.* **7** 13616 (2016) (DOI: 10.1038/ncomms13616)
18. C.-Y. Lin, F. Perche, M. Ikegami, S. Uchida, K. Kataoka, K. Itaka, Messenger RNA-based therapeutics for brain diseases: An animal study for augmenting clearance of beta-amyloid by intracerebral administration of neprilysin mRNA loaded in polyplex nanomicelles. *J. Control. Release* **235** 268-275 (2016) (DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.06.001)
19. H. Aini, K. Itaka(2 番目), S. Uchida(5 番目), K. Kataoka(7 番目), 他 6 名 S. Ohba, Messenger RNA delivery of a cartilage-anabolic transcription factor as a disease-modifying strategy for osteoarthritis treatment. *Sci. Rep.* **6** 18743 (2016) (DOI: 10.1038/srep18743)
20. P. Mi, N. Nishiyama(8 番目), K. Kataoka(9 番目), 他 6 名 A pH-activatable nanoparticle with signal-amplification capabilities for non-invasive

imaging of tumour malignancy. *Nature Nanotechnol.* **11**(8) 724-730 (2016) (DOI: 10.1038/nnano.2016.72)

21. Y. Matsumoto(1 番目), N. Nishiyama(12 番目), K. Kataoka(15 番目), 他 12 名 Vascular bursts enhance permeability of tumour blood vessels and improve nanoparticle delivery. *Nature Nanotechnol.* **11**(6) 533-538 (2016) (DOI: 10.1038/nnano.2015.342)
22. M. Baba, K. Itaka(2 番目), K. Kataoka(5 番目), Treatment of neurological disorders by introducing mRNA in vivo using polyplex nanomicelles. *J. Control. Release* **201** 41-48 (2015) (DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.01.017)
23. K. Hayakawa, S. Uchida(2 番目), K. Kataoka(5 番目), K. Itaka(6 番目), 他 2 名 Intrathecal injection of a therapeutic gene-containing polyplex to treat spinal cord injury. *J. Control. Release* **197** 1-9 (2015) (DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.10.027)
24. H. -J. Kim, Y. Matsumoto(12 番目), N. Nishiyama(13 番目), K. Miyata(14 番目), K. Kataoka(15 番目), 他 10 名 Precise engineering of siRNA delivery vehicles to tumors using polyion complexes and gold nanoparticles. *ACS Nano* **8**(9) 8979-8991 (2014) (DOI: 10.1021/nn502125h)
25. H. Uchida, K. Itaka(2 番目), T. Ishii(4 番目), K. Miyata(7 番目), N. Nishiyama(9 番目), K. Kataoka(10 番目), 他 4 名 Modulated protonation of side chain aminoethylene repeats in N-substituted polyaspartamides promotes mRNA transfection. *J. Am. Chem. Soc.* **136**(35) 12396-12405 (2014) (DOI: 10.1021/ja506194z) (*JACS Spotlight*)

[学会発表] (計 206 件)

1. K. Kataoka, “Self-assembled supramolecular nanosystems for smart diagnosis and therapy of intractable diseases”, **6th Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC)**, May 22, 2017, Stockholmsmaessan, Stockholm, Sweden, (**Plenary Opening Lecture**)
2. K. Kataoka, “Fantastic voyage by supramolecular nanosystems: Challenge from polymer chemistry toward smart targeted therapy of intractable diseases”, **34th Herbert C. Brown Lecture**, April 14, 2017, Purdue University, West Lafayette, IN, USA (**H. C. Brown Lectureship Award**)
3. K. Kataoka, “Overcoming hurdles to clinical translation of RNA therapeutics”, **Gordon Research Conference on RNA Nanotechnology**, January 24, 2017, Ventura, CA, USA
4. K. Kataoka, “Block copolymer micelles as smart nanosystems for targeted drug delivery”, **Honorary Lecture for Gutenberg Research Award**, May 4, 2015, Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany, (**Award Lecture for Gutenberg Research Award**)

[図書] (計 7 件)

[産業財産権] (計 24 件、内 1 件は日米で成立済み。詳細は別紙研究成果一覧参照)

[その他]
ホームページ等
<http://iconm.kawasaki-net.ne.jp/kklab/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

片岡 一則 (KATAOKA, Kazunori)
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
研究者番号: 00130245

(2)研究分担者

横田 隆徳 (YOKOTA, Takanori)
東京医科歯科大学, 大学院医歯学総合研究科, 教授
研究者番号: 90231688

位高 啓史 (ITAKA, Keiji)
東京医科歯科大学, 生体材料工学研究所, 教授
研究者番号: 60292926

津本 浩平 (TSUMOTO, Kouhei)
東京大学, 大学院工学系研究科, 教授
研究者番号: 90271866

(3)連携研究者

長田 健介 (OSADA, Kensuke)
東京大学, 大学院工学系研究科, 特任准教授
研究者番号: 10396947

石井 武彦 (Ishii, Takehiko)
東京大学, 大学院工学系研究科, 特任准教授
研究者番号: 80415075

西山 伸宏 (NISHIYAMA, Nobuhiro)
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
研究者番号: 10372385

宮田 完二郎 (MIYATA, Kanjiro)
東京大学, 大学院工学系研究科, 准教授
研究者番号: 50436523

安楽 泰孝 (ANRAKU, Yasutaka)
東京大学, 大学院工学系研究科, 特任助教
研究者番号: 60581585

松本 有 (MATSUMOTO, Yu)
東京大学, 大学院医学系研究科, 特任講師
研究者番号: 80548553

内田 智士 (UCHIDA, Satoshi)
東京大学, 大学院工学系研究科, 特任助教
研究者番号: 20710726