

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02702

研究課題名(和文) 高感度ナノESI式1細胞質量分析による薬理薬効評価法の創出と革新的新薬の開発

研究課題名(英文) Creating a pharmacological evaluation system using a highly sensitive single cell ESI-MS analysis for the development of innovative new drugs.

研究代表者

安永 正浩 (Yasunaga, Masahiro)

国立研究開発法人国立がん研究センター・先端医療開発センター・分野長

研究者番号：80450576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：ナノESI(Electrospray Ionization)にCE-MS(capillary electrophoresis mass spectrometry)を組み合わせた1細胞レベルでのマルチオミクス解析法を開発した。これにより、生細胞や組織検体中の薬剤・生体分子を高感度で測定・分析が可能になった。さらに、in situ型質量分析により、従来困難であったがん細胞と間質細胞を区別した分析も可能になった。また、抗体医薬(ADCや抗CD20抗体など)のPK/PD/MOA解析法も確立した。  
以上、ナノESI法を用いた1細胞レベルの質量分析による新しい薬理薬効評価法を創出することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生きた細胞中の薬剤・生体分子を高感度で測定・分析が可能なナノESI法を用いた1細胞レベルの質量分析法を開発した。さらに、in situ型質量分析により、がん細胞と間質細胞を区別した分析も可能になった。これらの新しい技術・方法を導入することで、従来困難であった組織・細胞レベルでの抗体医薬のPK/PD/MOA解析ができるようになった。今後はマウスなどの非臨床試験と共に、治験や臨床研究でのヒト臨床サンプルの測定・解析にも利用していく予定である。本基盤技術は、基礎研究と臨床とのギャップを埋めるTR研究のコア技術としての拡大・発展と共に、革新的新薬の早期臨床応用へ貢献できることを期待している。

研究成果の概要(英文)：We developed a multi-omics analysis method for use at the single-cell level using nano ESI (electrospray ionization) with CE-MS (capillary electrophoresis mass spectrometry). This method allows us to measure and analyze drugs and biomolecules in both living cells and tissue samples with high sensitivity. Furthermore, in situ mass spectrometry made it possible to distinguish between cancer cells and stromal cells, which was previously difficult. We also established methods for PK (pharmacokinetics) / PD (pharmacodynamics) / MOA (mechanism of action) analysis of therapeutic antibodies, including ADCs (antibody-drug conjugates) or an anti-CD20 antibody. Thus, we have succeeded in developing a new drug efficiency and pharmacological test by single-cell mass-spectrometric analysis using nano-ESI and CE-MS.

研究分野：腫瘍学、ドラッグデリバリー、抗体創薬、分子イメージング、細胞生物学

キーワード：ドラッグデリバリー 抗体 質量分析 分子イメージング ADC

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

質量分析 (MS) イメージングで標的部位での薬剤の分布が可視化され in situ (組織を保ったままでの細胞レベル)での薬理薬効評価への応用が期待されているが、MSイメージングで汎用されているイオン化はMALDI (Matrix-Associated Laser Desorption/Ionization) 法であり、マトリックスに依存したイオン化効率の問題等で、通常投与量では多くの薬剤が感度不足のため評価できていない。さらに、前処理としてマトリックス塗布が必要なため生細胞のMSイメージングは不可能と言える。抗体も高分子 (150kDa) でありMALDI法では通常 1 価に荷電されるため、 $m/z$ は通常分子量通り約150Kのままであり、サイズの検出限界を超えている。

一方、ESI法は、ほぼ全ての薬剤のイオン化が可能であり、検出感度も10-100倍高い。マトリックス塗布などの前処理も不要であるため、生細胞のMSイメージングも可能である。薬効の評価が必要とされるのが、治療効果を判定するバイオマーカーの開発である。そこで、期待されているのがメタボローム (生化学的代謝物) やリン酸化蛋白の評価である。メタボロームイメージングとして前者の分析は比較的容易であるが、後者に関してはリン酸化蛋白の低いイオン化効率のため難問とされている。

さらに、今後の発展が期待されているのが、組織レベルでの質量分析法の開発である。腫瘍組織では、がん細胞以外にも間質が存在しており、コラーゲンなどのタンパク質成分や繊維芽細胞、マクロファージなどの細胞成分が不均一に混在したがん微小環境を形成している。これらの細胞・タンパク質成分が抗体医薬を含めたドラッグデリバリーの障害 (=間質バリア) や薬理薬効に大きく影響を与えていることが知られている。しかしながら、現時点では動物実験と臨床検体ともに、in situで測定・分析する方法がなく、創薬にフィードバックできる情報がないことが革新的新薬の開発を難しくしているものと思われた。

## 2. 研究の目的

### (1) 1細胞質量分析法を活用した組織における in situ型質量分析法の確立

臨床検体にも応用できるように高感度で薬剤の可視化が可能なナノESI (Electrospray Ionization) 法を用いた 1 細胞レベルの質量分析による新しい薬理薬効評価法を創出する。従来困難であったがん細胞と間質細胞を区別した質量分析或いはMSイメージングが可能になる。

### (2) 質量分析によるリン酸化タンパク質解析法の開発

通常タンパク質・ペプチドを対象にしたプロテオーム解析法に加えて、リン酸化蛋白分析法の開発も試みる。

### (3) in situ型質量分析法による薬理薬効解析法の確立

高感度質量分析法により、ADC (Antibody-drug conjugate) の組織内でのデリバリー効果を可視化する。通常薬剤と共に分子標的剤、免疫療法剤、化学療法剤として複合的薬効性をもつ抗体医薬・ADCの薬理薬効を in situ で分析可能なシステムを構築することができる。

### (4) 抗 CD20 抗体の薬効性解明に必要な質量分析法の開発

抗 CD20 抗体によるクロスリンキング細胞死誘導の分子メカニズムの解明に必要な質量分析法の開発及び新薬開発に役立てる。

## 3. 研究の方法

### (1) in situ型質量分析法

オリジナルの微細加工・微量液操作テクノロジーを展開して、組織サンプルから局所的に1細胞

レベルの試料を採取し、極微量スケールで前処理するシステムを開発する。

CE-MS・nanoLC-MSなどの極微量・超高感度質量分析技術を組み合わせた1細胞レベルのメタボロームプロファイリング法および100-1000細胞レベルのプロテオームプロファイリング法を開発する。

#### (2) リン酸化蛋白分析法の開発

質量分析装置を利用した新しいタンパク質量法 “MS-QBiC (MS-based Quantification By isotope-labeled Cell-free product)” を応用して、リン酸化蛋白分析法の開発を行う。

#### (3) in situ型質量分析法による薬理薬効解析法の確立

in vitro の1細胞質量分析において、1細胞レベルで薬剤の測定可能であることを確かめる。次いで、ADCのペイロードとして、汎用されるMMAEとカンプトテシン系薬剤の測定を試みる。さらに、(1)のin situ型質量分析法を用いて、生体に薬剤を投与した組織レベルにおいても、各薬剤が高感度で測定できることを確認して、PK(Pharmacokinetics)/PD(Pharmacodynamics)/MOA(Mechanism of action) 評価法として優れていることを実証する。

#### (4) 抗CD20抗体の薬効性解明に必要な質量分析法の開発

抗CD20抗体・リツキシマブの薬効として、CDC(complement-dependent cytotoxicity)とADCC(antibody-dependent cellular cytotoxicity)がよく知られているが、今回はユニークな薬効として知られているクロスリンキングによる細胞死誘導に着目した。抗CD20抗体のクロスリンキングによる細胞死誘導の評価系を確立すると共に、その分子メカニズム解明に必要な質量分析法を新たに開発する。

### 4. 研究成果

#### (1) in situ型質量分析法

従来型の1細胞質量分析法ではノズルで1細胞を吸引して、ダイレクトに質量分析装置で測定を行う方法であった。今回は、専用のマイクロニードルを作製・使用して1細胞の吸引を行った後に、PCRチューブ内でのサンプル前処理法を行った。さらに、capillary electrophoresisにおいて、サンプルの大量導入と電気的濃縮を行い、ナノESI法のイオン化により質量分析を行った。本法を行うことで、MALDI法では困難な生きた細胞の質量分析が可能なことに加えて、従来の1細胞質量分析では困難であった低分子代謝物や薬剤の測定が可能になった。さらに、in vitroに限らず、微量な組織由来サンプルも高感度で測定可能と思われた。そこで、in situレベルの質量分析法の開発に取り組んだ。

In vitroの培養細胞とは異なり、組織切片では細胞集塊を形成していることと、切片作製時の細胞傷害による核酸成分が細胞外に残存・付着しているため粘性が増していることから、1細胞の単離は困難であった。さらに、微小シリンジによる組織上の微小ドロップレット形成と有機溶媒による回収法も試みたが、手技的に安定性を欠いており、隣接したサンプリング領域を一定幅離す必要があるなどの問題点が生じた。そこで最終的にレーザーマイクロダイゼクション(LMD)による微小領域の切除後に質量分析を行う方法を選択した。代謝物・薬剤に対しては、極微量スケールでの前処理法とCE-MS・川井法を組み合わせた。その結果、組織サンプルを1細胞レベルのメタボロームプロファイリング法および100-1000細胞レベルのプロテオームプロファイリング法で解析できるようになった。

#### (2) リン酸化蛋白分析法の開発

無細胞タンパク質合成系の PURE system を利用し、ターゲットプロテオミクスによる絶対定量法に最適化したワークフローである MS-QBiC を用いることで、様々なペプチドをマイクロリットルスケールで合成から精製までできる。さらに、内標を簡便かつハイスループットに準備して絶対定量を行うことができる優れたシステムである。アルカリフォスファターゼを用いたターゲットサンプルの非特異的脱リン酸化によってフォスファターゼの存在または非存在下における比較プロテオミクスを行うことによって、MS-QBiC 法をリン酸化蛋白分析法に応用できることを見出した。

### (3) in situ 型質量分析法による薬理薬効解析法の確立

まず、in vitro の 1 細胞質量分析において、MCF7 細胞に 50  $\mu$ M シクロスポリンを暴露させた場合に、4.1-6.8  $\mu$ M で測定できることを確認した。次いで、(1) の in situ 型質量分析法について、ADC のペイロードで汎用される MMAE とカンプトテシン系薬剤の測定を試みた。In vitro において、標品を測定対象にした場合、MMAE ; 55 fM (55 zmol) とカンプトテシン系薬剤 ; 67 fM (67 zmol) で、高感度で測定できることを確かめた。組織レベルにおいても、長径 100  $\mu$ m の組織切片においても十分にペイロードの測定可能であったことから、100nM 以上の薬剤濃度であれば 1 細胞分解能が保証できるものと判断された。

### (4) 抗 CD20 抗体の薬効性解明に必要な質量分析法の開発

CD20 陽性 EGFR 陰性悪性リンパ腫細胞株 Ramos と CD20 陰性 EGFR 陽性大腸がん細胞株 DLD1 に対して、抗 CD20 抗体もしくは抗 EGFR 抗体を作用させた後に、抗ヒト 2 次抗体を投与した。Ramos に対して、抗 CD20 抗体と抗ヒト 2 次抗体を作用させたときのみ細胞死を誘導することができた。IC50 は、約 8  $\mu$ g/ml であった。一方、他の条件では、細胞増殖・生存に影響を与えることはなかった。抗 CD20 抗体の Ramos への作用性・クロスリンキングによる細胞死メカニズムを明らかにするために、質量分析で抗 CD20 抗体の測定・定量化を試みた。0.6~300  $\mu$ g/ml の範囲であれば抗 CD20 抗体の定量化ができることが判明した。そこで、まずは質量分析で、細胞死に関与するバイオマーカー探索・同定法の確立を行った。抗 CD20 抗体の PK に加えて、リン脂質や一次代謝物の変動を MRM 解析で測定することで、PD や MOA を調べることができることを確かめた。

### (5) 結語

生細胞に対しても、薬剤・生体分子を高感度で測定・分析が可能なナノ ESI 法を用いた 1 細胞レベルの質量分析法を開発した。さらに、in situ 型質量分析により、がん細胞と間質細胞を区別した分析も可能になった。これらの新しい技術・方法を導入することで、従来困難であった組織・細胞レベルでの抗体医薬 (ADC や抗 CD20 抗体など) の PK/PD/MOA 解析ができるようになった。今後はマウスなどの非臨床試験と共に、治験や臨床研究でのヒト臨床サンプルの測定・解析にも利用していく予定である。本基盤技術は、基礎研究と臨床とのギャップを埋める TR 研究のコア技術としての拡大・発展と共に、革新的新薬の早期臨床応用へ貢献できることを期待している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 23件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 19件）

1. 著者名 Yasunaga Masahiro	4. 巻 64
2. 論文標題 Antibody therapeutics and immunoregulation in cancer and autoimmune disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seminars in Cancer Biology	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcancer.2019.06.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koganemaru Shigehiro, Kuboki Yasutoshi, Koga Yoshikatsu, Kojima Takashi, Yamauchi Mayumi, Maeda Naoyuki, Kagari Takashi, Hirofumi Kenji, Yasunaga Masahiro, Matsumura Yasuhiro, Doi Toshihiko	4. 巻 18
2. 論文標題 U3-1402, a Novel HER3-Targeting Antibody?Drug Conjugate, for the Treatment of Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Therapeutics	6. 最初と最後の頁 2043~2050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1535-7163.MCT-19-0452	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasunaga Masahiro, Saijou Shinji, Hanaoka Shingo, Anzai Takahiro, Tsumura Ryo, Matsumura Yasuhiro	4. 巻 110
2. 論文標題 Significant antitumor effect of an antibody against TMEM180, a new colorectal cancer specific molecule	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 761~770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsumura Ryo, Manabe Shino, Takashima Hiroki, Koga Yoshikatsu, Yasunaga Masahiro, Matsumura Yasuhiro	4. 巻 110
2. 論文標題 Evaluation of the antitumor mechanism of antibody drug conjugates against tissue factor in stroma rich allograft models	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3296~3305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasunaga M, Manabe S, Furuta M, Ogata K, Koga Y, Takashima H, Nishida T, Matsumura Y	4. 巻 5
2. 論文標題 Mass spectrometry imaging for early discovery and development of cancer drugs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 AIMS Medical Science	6. 最初と最後の頁 162 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3934/medsci.2018.2.162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasunaga M, Saijou S, Hanaoka S, Anzai T, Tsumura R, Matsumura Y	4. 巻 110
2. 論文標題 Significant antitumor effect of an antibody against TMEM180, a new colorectal cancer specific molecule	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 761 ~ 770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fuchigami, Manabe Shino, Yasunaga M, Matsumura Y	4. 巻 8
2. 論文標題 Chemotherapy payload of anti-insoluble fibrin antibody-drug conjugate is released specifically upon binding to fibrin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-32601-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsumura R, Manabe S, Takashima H, Koga Y, Yasunaga M, Matsumura Y	4. 巻 284
2. 論文標題 Influence of the dissociation rate constant on the intra-tumor distribution of antibody-drug conjugate against tissue factor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 49 ~ 56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2018.06.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 安永正浩	4. 巻 267
2. 論文標題 抗体薬物複合体(ADC)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 511-518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ali A, Abouleila Y, Shimizu Y, Hiyama E, Watanabe TM, Yanagida T, Germond A	4. 巻 91
2. 論文標題 Single-Cell Screening of Tamoxifen Abundance and Effect Using Mass Spectrometry and Raman-Spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 2710 ~ 2718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b04393	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Abouleila Y, Onidani K, Ali A, Shoji H, Kawai T, Lim CT, Kumar V, Okaya S, Kato K, Hiyama E, Yanagida T, Masujima T, Shimizu Y, Honda K	4. 巻 110
2. 論文標題 Live single cell mass spectrometry reveals cancer specific metabolic profiles of circulating tumor cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 697 ~ 706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13915	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takashima Hiroki, Koga Yoshikatsu, Manabe Shino, Ohnuki Kazunobu, Tsumura Ryo, Anzai Takahiro, Iwata Nozomi, Wang Yang, Yokokita Takuya, Komori Yukiko, Mori Daiki, Usuda Sachiko, Haba Hiromitsu, Fujii Hirofumi, Matsumura Yasuhiro, Yasunaga Masahiro	4. 巻 112
2. 論文標題 Radioimmunotherapy with an At labeled anti-tissue factor antibody protected by sodium ascorbate 211	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1975 ~ 1986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14857	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsumura Ryo, Anzai Takahiro, Manabe Shino, Takashima Hiroki, Koga Yoshikatsu, Yasunaga Masahiro, Matsumura Yasuhiro	4. 巻 45
2. 論文標題 Antitumor effect of humanized anti-tissue factor antibody?drug conjugate in a model of peritoneal disseminated pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 329 ~ 336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2020.7850	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kamakura Daisuke, Asano Ryutaro, Kawai Hiroki, Yasunaga Masahiro	4. 巻 70
2. 論文標題 Mechanism of action of a T cell-dependent bispecific antibody as a breakthrough immunotherapy against refractory colorectal cancer with an oncogenic mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Immunology, Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 177 ~ 188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00262-020-02667-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takashima Hiroki, Koga Yoshikatsu, Tsumura Ryo, Yasunaga Masahiro, Tsuchiya Masami, Inoue Tadashi, Negishi Eriko, Harada Mitsunori, Yoshida Sei, Matsumura Yasuhiro	4. 巻 323
2. 論文標題 Reinforcement of antitumor effect of micelles containing anticancer drugs by binding of an anti-tissue factor antibody without direct cytotoxic effects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 138 ~ 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.03.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Numasawa Koji, Hanaoka Kenjiro, Saito Naoko, Yamaguchi Yoshifumi, Ikeno Takayuki, Echizen Honami, Yasunaga Masahiro, Komatsu Toru, Ueno Tasuku, Miura Masayuki, Nagano Tetsuo, Urano Yasuteru	4. 巻 59
2. 論文標題 A Fluorescent Probe for Rapid, High Contrast Visualization of Folate Receptor Expressing Tumors In Vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 6015 ~ 6020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201914826	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Levy Michael, Falkovich Reuven, Vonshak Ohad, Bracha Dan, Tayar Alexandra M., Shimizu Yoshihiro, Daube Shirley S., Bar-Ziv Roy H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Boundary-Free Ribosome Compartmentalization by Gene Expression on a Surface	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 609 ~ 619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.0c00613	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Demeiry Menna El, Ali Ahmed, Abouleila Yasmine, Zarad Walaa, El-Gendy Heba, Salam Randa Abdel, Hadad Ghada, Shimizu Yoshihiro, Masujima Tsutomu, Emara Samy	4. 巻 195
2. 論文標題 Direct infusion nano-electrospray ionization mass spectrometry for therapeutic drug monitoring of ciprofloxacin and its metabolites in human saliva	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 113866 ~ 113866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2020.113866	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawaguchi Daisuke, Kodama Ayumi, Abe Naoko, Takebuchi Kei, Hashiya Fumitaka, Tomoike Fumiaki, Nakamoto Kosuke, Kimura Yasuaki, Shimizu Yoshihiro, Abe Hiroshi	4. 巻 59
2. 論文標題 Phosphorothioate Modification of mRNA Accelerates the Rate of Translation Initiation to Provide More Efficient Protein Synthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 17403 ~ 17407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202007111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hibi Keita, Amikura Kazuaki, Sugiura Naoki, Masuda Keiko, Ohno Satoshi, Yokogawa Takashi, Ueda Takuya, Shimizu Yoshihiro	4. 巻 3
2. 論文標題 Reconstituted cell-free protein synthesis using in vitro transcribed tRNAs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-1074-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Makiko, Shintani-Domoto Yukako, Nagashima Yoshiki, Ode Koji L., Sato Aya, Shimizu Yoshihiro, Ohashi Kenichi, Roehrl Michael H. A., Ushiku Tetsuo, Ueda Hiroki R., Fukayama Masashi	4. 巻 15
2. 論文標題 Mass spectrometry-based absolute quantification of amyloid proteins in pathology tissue specimens: Merits and limitations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 235143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0235143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Aoki Masahiko, Shoji Hirokazu, Kashiro Ayumi, Takeuchi Keiko, Shimizu Yoshihiro, Honda Kazufumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Prospects for Comprehensive Analyses of Circulating Tumor Cells in Tumor Biology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1135 ~ 1135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12051135	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamoto Kosuke, Abe Naoko, Tsuji Genichiro, Kimura Yasuaki, Tomoike Fumiaki, Shimizu Yoshihiro, Abe Hiroshi	4. 巻 56
2. 論文標題 Chemically synthesized circular RNAs with phosphoramidate linkages enable rolling circle translation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 6217 ~ 6220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0cc02140g	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Makiko, Shintani-Domoto Yukako, Nagashima Yoshiki, Ode Koji L., Sato Aya, Shimizu Yoshihiro, Ohashi Kenichi, Roehrl Michael H. A., Ushiku Tetsuo, Ueda Hiroki R., Fukayama Masashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Versatile whole-organ/body staining and imaging based on electrolyte-gel properties of biological tissues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-15906-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Masahiro Yasunaga, Shino Manabe, Ryutaro Asano, Yasuhiro Matsumura
2. 発表標題 1. Development of Next-Generation Antibody Therapeutics against Cancer and Autoimmune Disease Utilizing DDS and Molecular Imaging
3. 学会等名 Keystone Symposia Antibodies as Drugs (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masahiro Yasunaga, Shino Manabe, Atsushi Tsuji, Tatsuya Higashi, Tsuneo Saga, Masaru Furuta, Koretsugu Ogata, Hiroki Takashima, Hirobumi Fuchigami, Yoshikatsu Koga, Yasuhiro Matsumura
2. 発表標題 2. DDS and Molecular Imaging for Antibody-Drug Conjugate (ADC) Development
3. 学会等名 Japanese Society for Molecular Imaging
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masahiro Yasunaga, Ryutaro Asano, Daisuke Kamakura, Yasuhiro Matsumura.
2. 発表標題 3. Development of bispecific antibody (BsAb) against refractory cancer using antibody engineering, DDS and molecular imaging
3. 学会等名 Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安永正浩、辻厚至、高島大輝、佐賀恒夫、松村保広
2. 発表標題 難治性がんに対する分子イメージング法の開発
3. 学会等名 第11回日本分子イメージング学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安永正浩, 西条信史, 花岡慎悟, 安西高廣, 津村遼, 松村保広
2. 発表標題 Development of novel diagnosis and treatment of CRC by mAb targeting of a newly-identified multi-pass membrane protein
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasunaga M
2. 発表標題 Development of Antibody-Drug Conjugate Using DDS and Molecular Imaging
3. 学会等名 International Advanced Drug Delivery Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasunaga M, Manabe S, Tsuji A, Furuta M, Ogata K, Fichigami H, Koga Y, Matsumura Y
2. 発表標題 DDS and Molecular Imaging for Antibody-Drug Conjugate (ADC) Development
3. 学会等名 Antibody Engineering & Therapeutics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasunaga M
2. 発表標題 Development of Antibody-Drug Conjugate Utilizing DDS and Molecular Imaging
3. 学会等名 Antibody Engineering & Therapeutics Asia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirakawa T, Yasunaga M, Kawai T, Shimizu Y, Shitara K, Koganemaru S, Kuboki Y, Doi T, Matsumura Y.
2. 発表標題 Discovery of novel biomarkers against refractory cancer using in situ level mass spectrometry informatics.
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kamakura D, Masahiro Yasunaga M, Ryutaro Asano R, Matsumura Y.
2. 発表標題 Development of bispecific antibodies using molecular imaging.
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 akashima H, Koga Y, Onuki K, Manabe S, Tsumura R, Anzai T, Iwata N, Yasunaga M, Yang W, Yokokita T, Komori Y, Mori D, Haba H, Fujii H, Matsumura Y.
2. 発表標題 Preclinical evaluation of astatine-211-conjugated anti-tissue factor antibody.
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平川環、川井隆之、清水義宏、設楽紘平、小金丸茂博、久保木恭利、土井俊彦、安永正浩.
2. 発表標題 Discovery of new biomarkers against refractory cancer using in situ level mass spectrometry informatics.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安永正浩、眞鍋史乃、鎌倉大輔、津村遼、西条信史、花岡慎悟、安西高廣、津村遼、淵上弥史、浅野竜太郎.
2. 発表標題 Development of next generation antibody therapeutics utilizing DDS and molecular imaging.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌倉大輔、浅野竜太郎、安永正浩
2. 発表標題 T cell-dependent bispecific antibody-induced two distinct mechanism of actions against solid tumor.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高島大輝、古賀宣勝、津村遼、土屋方美、井上義、根岸永璃子、原田充訓、吉田聖、松村保広、安永正浩
2. 発表標題 Antitumor effect of nanomicelles conjugated to an anti-tissue factor antibody without a direct cytotoxic effect.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shiqi Yang, 眞鍋史乃、安永正浩
2. 発表標題 Immune targeting strategy using anti-IL-7R antibody-drug conjugate (A7R-ADC).
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩田望、高島大輝、古賀宣勝、大貫和信、藤井博史、松村保広、安永正浩
2. 発表標題 Development of an anti-TMEM180 antibody conjugated with the alpha particle emitter actinium-225.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 津村遼、安西高廣、眞鍋史乃、高島大輝、古賀宣勝、安永正浩
2. 発表標題 Antibody-drug conjugate targeting tissue factor for pancreatic cancer treatment.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安西高廣、安永正浩、松村保広
2. 発表標題 TMEM180 is involved in proliferation of colorectal cancer cell line SW480 through metabolic pathways.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌倉大輔、浅野竜太郎、安永正浩
2. 発表標題 2重特異性抗体の固形がんに対する臨床開発へ向けたPK/PD/MOA研究
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 津村遼、眞鍋史乃、安西高廣、高島大輝、古賀宣勝、安永正浩、松村保広
2. 発表標題 組織因子(tissue factor)を標的とした抗体抗がん剤複合体の開発
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 淵上弥史、安永正浩、松村保広
2. 発表標題 がん間質のフィブリン沈着を標的としたイメージングプローブの開発
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩田望、高島大輝、古賀宣勝、大貫和信、西條信史、藤井博史、安永正浩、松村保広
2. 発表標題 アルファ線放出核種アクチニウム-225結合抗TMEM180抗体の開発
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 安永正浩	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルレビュー	5. 総ページ数 8
3. 書名 新しいDDS がん分子標的治療	



1. 著者名 安永正浩 (ドラッグデリバリーシステム), 日本臨床腫瘍学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 872
3. 書名 新臨床腫瘍学 (改訂第5版)	

1. 著者名 安永正浩	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Drug Delivery System. 日本DDS学会発行	5. 総ページ数 11
3. 書名 がん、炎症・自己免疫疾患、感染症に対する抗体DDS療法	

1. 著者名 Masahiro Yasunaga, Shino Manabe, Yasuhiro Matsumura	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 19
3. 書名 CAST therapy	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>国立がん研究センター・先端医療開発センター・新薬開発分野  <a href="https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/index.html">https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/index.html</a>          国立がん研究センター・先端医療開発センター・新薬開発分野・主な研究内容  <a href="https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/research_summary/20170909133449.html">https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/research_summary/20170909133449.html</a>          国立がん研究センター・先端医療開発センター・新薬開発分野・スタッフプロフィール  <a href="https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/members/020/index.html">https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/members/020/index.html</a>          東京大学大学院新領域創成科学研究科・連携講座・がん先端生命科学分野・教員紹介  <a href="https://www.youtube.com/watch?v=tAK-efuBbbo">https://www.youtube.com/watch?v=tAK-efuBbbo</a>          Researchmap  <a href="https://researchmap.jp/myasunaga/">https://researchmap.jp/myasunaga/</a>          東京大学大学院新領域創成科学研究科/先端生命科学専攻/がん先端生命科学講座  <a href="https://www.k.u-tokyo.ac.jp/pros/person/masahiro_yasunaga/masahiro_yasunaga.htm">https://www.k.u-tokyo.ac.jp/pros/person/masahiro_yasunaga/masahiro_yasunaga.htm</a>          東京大学大学院新領域創成科学研究科/先端生命科学専攻/がん先端生命科学講座/YouTube  <a href="https://www.youtube.com/watch?v=-w41XuptYVw">https://www.youtube.com/watch?v=-w41XuptYVw</a></p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	清水 義宏  (Shimizu Yoshihiro)  (90401231)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー   (82401)	
研究分担者	柳田 敏雄  (Yanagida Toshio)  (30089883)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー   (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関