

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19889

研究課題名(和文) 組織浸透性に優れたsiRNA搭載極小脂質ナノ粒子による新規がん治療

研究課題名(英文) novel cancer treatment by highly permeable small-sized siRNA-loaded lipid nanoparticles

研究代表者

佐藤 悠介 (Sato, Yusuke)

北海道大学・薬学研究院・助教

研究者番号：10735624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：小さな脂質ナノ粒子は優れた組織浸透性と効率的な核酸送達が期待されることから、その開発は重要である。一方で、粒子径の減少に伴う粒子の物理科学的安定性の低下や薬物送達活性の減少がその応用可能性を大きく制限している。本研究では、活性低下メカニズムに基づいて、pH感受性カチオン性脂質の疎水性足場構造による影響に着目し、極小粒子径と活性を両立するsiRNA搭載脂質ナノ粒子の開発とメカニズム解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

極小粒子径と高いsiRNA送達効率を両立可能な脂質ナノ粒子製剤を見出し、その処方最適化とメカニズム解明に成功した。pH感受性カチオン性脂質の足場鎖長が中性リン脂質との混和性に影響を与え、高い遺伝子ノックダウン活性に寄与していることが明らかとなった。本知見は今後の核酸搭載脂質ナノ粒子開発における合理的な脂質設計および製剤処方検討の指針になると期待される。また、組織浸透性が課題となっているナノ医薬によるがん治療の実現や核酸ナノ粒子製剤の侵襲性の低い投与経路への応用に期待される。

研究成果の概要(英文)：Despite the fact that development of small-sized lipid nanoparticles are important for improved tissue penetration and efficient nucleic acid delivery, their poor stability and intracellular trafficking significantly hinders their use as potent small-sized lipid nanoparticles. In this study, inspired by the mechanism for the reduced potency, small-sized and potent short interfering RNA-loaded lipid nanoparticles were developed. The mechanism was analyzed from viewpoint of hydrophobic scaffold structure of pH-sensitive cationic lipid.

研究分野：薬物送達学

キーワード：脂質ナノ粒子 粒子径 足場構造 遺伝子ノックダウン マイクロ流体デバイス

1. 研究開始当初の背景

Short interfering RNA (siRNA) は RNA 干渉を介して塩基配列特異的に特定の遺伝子発現を抑制可能な機能性核酸であり、がんなどの遺伝子変異を伴う難治性疾患に対する治療モダリティとして期待されている。一方で、がん組織中に豊富に存在するコラーゲンやヒアルロン酸などの間質成分が siRNA 搭載ナノ粒子のがん組織内浸透性を著しく阻害し、これが薬効発現を妨げる原因の一つとなっている。とくにヒト患者のがん組織は基礎研究で汎用される動物モデルと比較して間質が豊富であることが指摘されており、その影響は致命的となる。従って、上記の問題点を考慮した送達システムの開発戦略が強く求められる。上記問題点の解決法として、乾燥成分による細かな網目を物理的に突破することが可能になるよう、キャリアを小型化する戦略が挙げられる。脂質ナノ粒子 (LNP) は siRNA 送達キャリアとして精力的に開発が進められている。一方で、非常に小さな siRNA 搭載 LNP を高い再現性および効率で製造すること自体の技術的ハードルが高いこと、また、siRNA 搭載 LNP の小型化に伴って siRNA 送達効率が著しく低下することが非常に大きな障壁となり、その開発報告例は皆無であった。

2. 研究の目的

そのような背景の下、直径約 23 nm の極小粒子径と遺伝子ノックダウン活性を両立する siRNA 搭載 LNP を見出すことに成功した。本研究では、本 LNP の構造および物理化学的性質を解析し、極小粒子径と活性を両立するメカニズムを理解することで新たな LNP 製剤設計戦略を提案することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) siRNA 搭載 LNP の製造

siRNA 搭載 LNP はバッフルミキサー内蔵マイクロ流体デバイスを用いてアルコール希釈法を原理とする手法で製造した。脂質は pH 感受性カチオン性脂質、ヘルパー脂質 (中性リン脂質またはコレステロール) および PEG 化脂質を任意の割合で混合したものを使用した。脂質が溶解したアルコール溶液と siRNA が溶解した緩衝液を総流速 1.5 mL/min、アルコール溶液に対する緩衝液の流速比 3 の条件でシリジポンプを用いてマイクロ流体デバイスに注入した。回収した LNP 溶液は透析によりアルコールの除去と PBS(-)への置換を行った。動的光散乱法により粒子径および多分散度指数 (PdI) を、電気泳動光散乱法により ζ 電位を、Ribogreen アッセイにより siRNA 濃度および siRNA 搭載効率を測定した。

(2) 遺伝子ノックダウン活性

デュアルルシフェラーゼ安定発現 HeLa (HeLa-dluc) 細胞に対し、各濃度のホタルルシフェラーゼに対する siRNA (siGL4) を搭載した LNP をリバーストランスフェクションし、24 時間培養した。HeLa-dluc 細胞を 1×passive lysis buffer で溶解し、Dual-Glo assay によりホタルルシフェラーゼおよびウミシイタケルシフェラーゼ活性を測定した。ホタルルシフェラーゼ活性をウミシイタケルシフェラーゼ活性で除すことで比を算出し、LNP 処理細胞と未処理細胞との比から遺伝子ノックダウン効率を求めた。

(3) 細胞取り込み

各濃度の Alexa Fluor 647 (AF647) 標識 siRNA 搭載 DiO 標識 LNP を HeLa-dluc 細胞にリバーストランスフェクションし、2 時間培養した。細胞懸濁液を得、フローサイトメトリーにより siRNA および LNP の細胞取り込みを定量した。

(4) 細胞生存率測定

各濃度の siGL4 搭載 LNP (CL15H6:egg-derived sphingomyelin (ESM):PEG-DMG=40:60:3 mol%) を HeLa-dluc 細胞にリバーストランスフェクションし、24 時間培養した。LNO 処理群と同容量の PBS(-)で処理した群をコントロールとし、WST-8 アッセイにより細胞生存率を求めた。

(5) siRNA の RNase 耐性評価

siGL4 または siGL4 搭載 LNP (CL15H6:ESM:PEG-DMG=40:60:3 mol%) と RNase A を TritonX-100 存在下あるいは非存在下で 37°C、1 時間反応させた。ホルムアミドにより反応を停止させ、20%ポリアクリルアミドゲル電気泳動の後、ゲル染色および撮影を行った。

(6) ³¹P NMR 法による LNP の構造解析

siRNA およびリン脂質由来の ³¹P シグナルを区別するため、全てのリン酸ジエステル結合をホスホロチオエート (S) 化した siGL4 を用いた。S 化 siGL4 搭載 LNP (CL15H6:ESM:PEG-DMG=40:60:3 mol%) をマイクロ流体デバイスで製造し、透析により HEPES 緩衝生理食塩水 (pH7.4) に置換した後、限外濾過による濃縮した。必要に応じて LNP 溶液に SDS および塩化マンガンを加えた。プロトンデカップリング ³¹P NMR 測定を行った。

(7) ³¹P NMR 法による脂質懸濁液の多形解析

pH 感受性カチオン性脂質 (YSK05 または CK4H6)、中性リン脂質 (POPC または DSPC) およびアニオン性リン脂質 DSPE を等モル量含む脂質フィルムを調製し、クエン酸緩衝液 (pH4.0) により水和し、脂質懸濁液を得た。各温度におけるプロトンデカップリング ^{31}P NMR 測定を行った。

(8) LNP の透過型電子顕微鏡観察

siGL4 搭載 LNP (CL15H6:ESM:PEG-DMG=40:60:3 mol%) をグリッドに吸着させ、2% リン・タングステン酸染色の後、撮影を行った。

(9) X 線小角散乱法による脂質懸濁液の多形解析

pH 感受性カチオン性脂質 CL4H6、中性リン脂質 POPC およびアニオン性リン脂質 DSPE を等モル量含む脂質フィルムを調製し、クエン酸緩衝液 (pH4.0) により水和し、脂質懸濁液を得た。60°C における脂質懸濁液の SAXS 測定を行った。

4. 研究成果

(1) 極小粒子径と活性を両立する製剤条件の検討

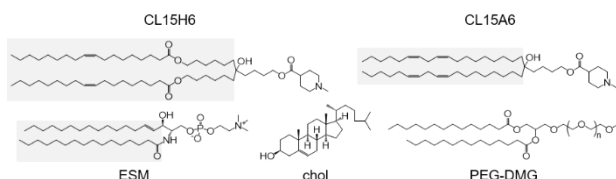


図1 本研究に主に用いた脂質の化学構造
CL15H6 および CL15A6 : pH 感受性カチオン性脂質. ESM (egg-derived sphingomyelin) および chol (cholesterol) : ヘルパー脂質. PEG-DMG : PEG 化し脂質.

質として chol を用いた LNP について PEG-DMG 含量を 1 mol% に減らした LNP も検討した。

各 LNP の粒子径を比較したところ、PEG-DMG 含量の増加に応じて chol 含有 LNP は 60 nm 前後から 35 nm 程度まで小型化した (図 2A)。さらに、ヘルパー脂質として ESM を用いた場合、25 nm 程度まで減少した。pH 感受性カチオン性脂質の種類は PEG-DMG 3mol% 含有 LNP において粒子径に対する大きな影響は認められなかった。これらの siGL4 搭載 LNP の HeLa-dluc 細胞におけるノックダウン活性を評価したところ、PEG-DMG 1 mol% 含有 LNP において CL15H6 は CL15A6 よりも 3 倍程度高い活性を示した (図 2B)。PEG-DMG 含量が 3 mol% とすることで CL15A6-LNP は活性が消失し、既報通り、小型化による顕著な活性低下が認められた。一方で、CL15H6-LNP は PEG-DMG 含量 1 mol% と比較して 10 倍程度の活性低下は認められたものの、濃度依存的な遺伝子ノックダウンを示した。ヘルパー脂質として ESM へ変更した場合、CL15A6-LNP は活性の改善は認められなかった一方で、CL15H6-LNP は 3 倍程度の活性向上が認められた。以上より、CL15H6/ESM-LNP の活性発現は適切な pH 感受性カチオン性脂質とヘルパー脂質との組み合わせにより実現していることが示唆された。極小粒子径と活性を両立する上での中性リン脂質の要件を明らかにするため、他の中性リン脂質 (brain-derived sphingomyelin; BSM, milk-derived sphingomyelin; MSM, DOPC, DPC, EPC) を含む CL15H6-LNP のノックダウン活性を検討した。その結果、DPPC ではやや粒子径の増大が認められたものの、他の中性リン脂質は ESM と同様の 25 nm 程度の粒子径を示した (図 2C)。DOPC, DPPC および EPC はいずれも濃度依存的なノックダウンを示したことから、膜流動性や安定性に影響を及ぼす足場の不飽和度は遺伝子ノックダウン活性に大きな影響を与えないことが示された。一方、BSM および MSM は不活性であった。BSM および MSM はいずれも ESM や上記の 3 種 PC とは異なり、C24 等の長い炭化水素鎖を一部有すること

極小粒子径と遺伝子ノックダウン活性を両立する CL15H6/ESM-LNP (CL15H6:ESM:PEG-DMG=50:50:3 mol%) の特性を把握するため、pH 感受性カチオン性脂質をリノール酸 (C18:2) 由来の足場構造を有する CL15A6 へ、ヘルパー脂質として ESM を chol へ変更した LNP を比較として用いた (図 1)。また、粒子径の影響を検討するため、ヘルパー脂質

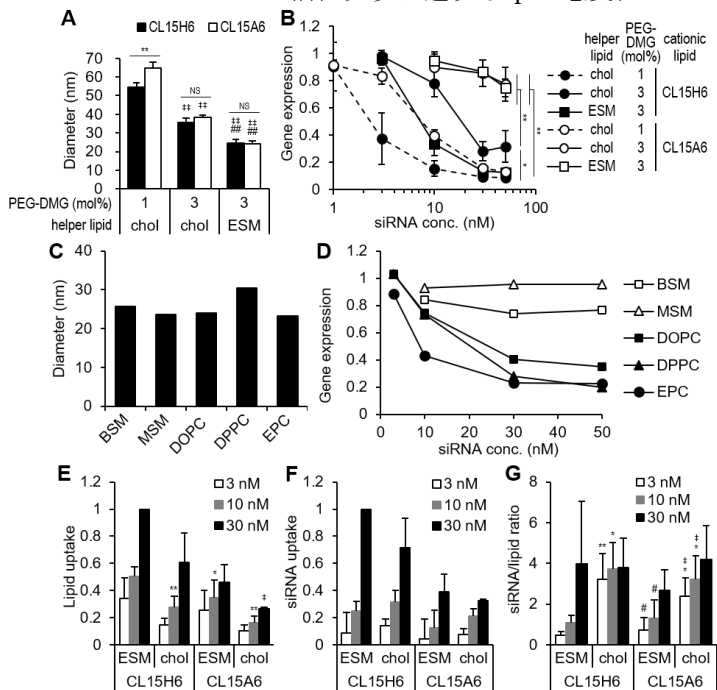


図2 LNPの製剤処方による活性等への影響

(A,B) pH感受性カチオン性脂質とヘルパー脂質の種類およびPEG-DMG含量を変化させた場合の影響の検討。各LNPの粒子径 (A) と遺伝子ノックダウン活性 (B) を測定した。(C,D) 中性リン脂質の種類を変更させた場合の影響。各CL15H6-LNPの粒子径 (C) および遺伝子ノックダウン活性 (D) を測定した。(E-G) pH感受性カチオン性脂質とリン脂質の種類を変更させた場合の細胞取り込みへの影響の検討。脂質 (E)、siRNA (F) およびsiRNA/脂質比 (G) を示した。

が知られている。以上より、リン脂質の炭化水素鎖長が活性発現に関連していることが示唆された。続いて、極小 LNP の細胞取り込みを測定した結果、脂質の取り込みは ESM 含有 LNP が chol 含有 LNP よりも 2 倍程度高いが (図 2E)、siRNA の取り込みは有意な差は認められなかった (図 2F)。LNP の血清含有培地中での安定性の指標として siRNA の取り込みを脂質の取り込みで除した値に着目すると、chol 含有 LNP と比較して pH 感受性カチオン性脂質の種類非依存的に ESM 含有 LNP の比は低く、培地中での安定性が比較的低いことが示唆された (図 2G)。また、siRNA 取り込みにおいて CL15H6 は CL15A6 と比較して約 2 倍高かった (図 2F)。しかし、この差は両者の活性の差を説明できるものではなく、活性の大きな差は細胞取り込み後のエンドソーム脱出過程にあることが推察された。

(2) CL15H6/ESM-LNP の脂質組成最適化

CL15H6/ESM-LNP の CL15H6/ESM 比を 30/70 から 70/30 まで変化させた。いずれも 90% 以上の高い siRNA 搭載効率を示し (図 3A)、粒子径は 40/60 で最小値 (22 nm) を示して CL15H6 含量の増加に伴って上昇した (図 3B)。これは嵩高い親水基を有する ESM 含量の低下により、粒径を増大させて総表面積を減少させたためであると考えられる。HeLa-dluc 細胞における遺伝子ノックダウン活性は 40/60 以上の比で IC₅₀ 値として約 10 nM を示し、30/70 では 2 倍程度低い活性を示した (図 3C)。以上の結果から、最も小さな粒子径と高い活性を両立する 40/60 を最適組成比とすることとした。最適 CL15H6/ESM-LNP の細胞毒性を調べたところ、50 nM まで毒性は全く認められなかった (図 3D)。また、製造後、4℃ 条件下で保存し、1 週間毎に物性を追跡したところ、4 週間まで粒子径および siRNA 搭載効率に変化は認められず、保存安定性に優れた製剤であることが明らかとなった (図 3E,F)。

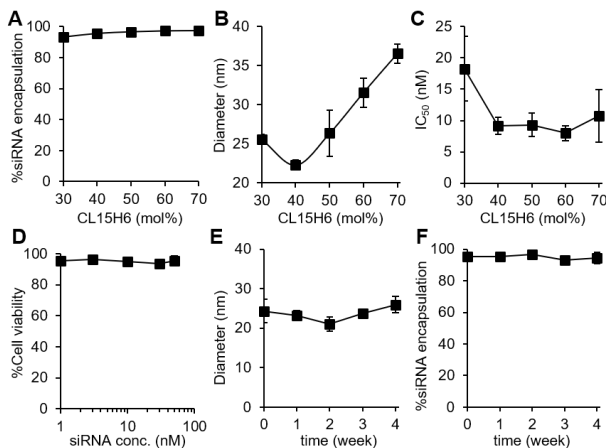


図3 CL15H6/ESM-LNPの最適化 (A-C) CL15H6/ESM比の検討。各CL15H6/ESM-LNPのsiRNA搭載効率 (A)、粒子径 (B) および遺伝子ノックダウン活性 (C) を測定した。(D) 最適CL15H6/ESM-LNPの細胞毒性。(E,F)最適CL15H6/ESM-LNPの保存安定性。LNPを4℃で各時間保存した後の粒子径 (E) およびsiRNA搭載効率 (F) を測定した。

(3) 最適 CL15H6/ESM-LNP の特性解析

まず、³¹P NMR 法により最適 CL15H6/ESM-LNP の構造解析を行った。ESM 由来の ³¹P シグナルと siRNA 由来の ³¹P シグナルを区別するため、S 化 siRNA を用いた。また、LNP は PBS(-)ではなく HEPES 緩衝生理食塩水中に懸濁した。まず、S 化 siRNA 単独を測定すると 58 ppm 付近にシグナルが認められ、0 ppm に検出される ESM のリン酸基と判別可能であることが確認できた (図 4Aa)。S 化 siRNA 搭載 LNP は 0 ppm の ESM 由来シグナルのみ検出され、siRNA 由来のシグナルは認められなかった (図 4Ab)。これは、siRNA が LNP 内に内包され、分子の運動性が制約されることでシグナルがブロード化し検出されなくなった結果であると考えられた。LNP に過剰量の SDS を加えると siRNA 由来のシグナルは回復し、上述の考察が支持される (図 4Ac)。また、LNP にシグナルブロードニング剤である塩化マンガンを加えると、加えない場合と比較して ESM 由来のシグナルの約 80% が消失した (図 4Ad)。塩化マンガンは膜非透過性であるため、LNP の外側に配置される ESM 由来のシグナルのみ消失させることから、大部分の ESM は LNP の表面に配置されていることが示唆された。塩化マンガンおよび SDS 存在下では全てのシグナルは消失した (図 4Ae)。最適 CL15H6/ESM-LNP の透過型電子顕微鏡撮影を行った結果、直径 20 nm 程度の球状であった (図 4B)。ヘルパー脂質を ESM とすることで chol と比較して粒子径が大幅に減少し、また、³¹P NMR 法による解析で多くの ESM が LNP 表面に配置していることが示唆された。そこで、粒子の分散安定性に対する ESM の影響を調べるため、粒子の分散安定化剤である PEG-DMG を減少あるいは用いずに LNP を製造した。比較として chol 含有 LNP を用いたところ、PEG 量の減少に伴って粒子径が増大し、PEG を除くと沈殿が認められた (図 4C)。一方で、ESM 含有 LNP は PEG 量の減少による粒子径の増大はほとんど認められなかった。以上より、

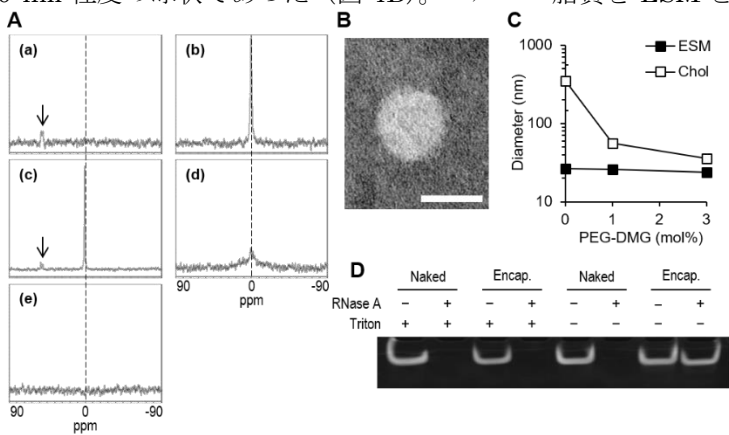


図4 最適CL15H6/ESM-LNPの構造・特性解析 (A) プロトンデカップリング³¹P NMR法による構造解析。(a)はS化siRNA担体、(b)はS化siRNA搭載LNP。(c)は(b)にSDSを加えたサンプル。(d)は(b)に塩化マンガンを加えたサンプル。(e)は(b)にSDSと塩化マンガンを加えたサンプル。(B) 最適CL15H6/ESM-LNPの透過型電子顕微鏡像 (C) ヘルパー脂質の種類が与えるPEG含量変化によるLNP粒子径への影響。(D) 最適CL15H6/ESM-LNPのRNaseIに対するsiRNA保護効果。

最適 CL15H6/ESM-LNP において主に ESM が分散安定性に貢献していることが明らかとなった。続いて、最適 CL15H6/ESM-LNP の RNase A に対する siRNA 保護能を検討した。その結果、最適 CL15H6/ESM-LNP は RNase による siRNA 分解を回避した (図 4D)。

(4) pH 感受性カチオン性脂質足場構造が脂質多形に与える影響の解析

これまでの検討から、足場構造の長い pH 感受性カチオン性脂質と C24 等の長鎖炭化水素鎖を含まない中性リン脂質の組み合わせが極小粒子径と遺伝子ノックダウン活性の両立に必要であること、また、高い活性は細胞取り込み量の上昇では説明できず、エンドソーム脱出過程の向上が示唆された。また、前述の通り、一般的にホスホコリン基を含有する中性リン脂質はラメラ構造を安定化させて膜融合を介したエンドソーム脱出を阻害することが知られているため、ESM を 60 mol% 含む最適 CL15H6/ESM-LNP が遺伝子ノックダウン活性を示すことは非常に意外な結果である。中性リン脂質による膜融合阻害効果は pH 感受性カチオン性脂質と中性リン脂質が混和することが前提条件にあると考え、混和しない場合、あるいは混和しにくい場合はその一般側には従わない可能性を考えた。これまでに、互いに鎖長の異なる脂肪酸鎖を有する脂質の混和性は低いことが報告されている。従って、pH 感受性カチオン性脂質とアニオン性脂質がイオンペアを形成して相転移を起こす膜融合の際、足場構造の長い pH 感受性カチオン性脂質が C18 あるいはそれ以下の脂肪酸長で構成される中性リン脂質と混和性が低いために中性リン脂質による膜融合阻害を受けず (受けにくく)、高い遺伝子ノックダウン活性を達成したと仮説した。pH 感受性カチオン性脂質の足場構造による影響を調べるため、リノール酸由来足場構造を有する YSK05 およびより長い足場構造を有する CL4H6 を用いた (図 5A)。各 pH 感受性カチオン性脂質、中性リン脂質およびアニオン性脂質 DSPS を等モルずつ含む脂質懸濁液の pH4 における多形を ^{31}P NMR 法により解析した。本解析法において、通常、低温ではラメラ相に由来するブロードな高磁場ピーク (図 5B、ピーク a) を示し、昇温に伴って逆ヘキサゴナル相へと転移し、ブロードな低磁場ピークを示す (図 5B、ピーク b)。YSK05/DSPS/DSPC の系では従来通り、低温 (22°C) ではラメラ相、高温 (50°C) では逆ヘキサゴナル相由来のピークが認められた (図 5B 左)。一方で、CL4H6 を含む系では DSPC、POPC の中性リン脂質によらずに低温 (22°C) ではラメラ相由来のピークを示したが昇温の伴う逆ヘキサゴナル相由来のピークは認めず、0 ppm にピーク (ピーク c) が現れた (図 5B 中央および右)。ピーク c はキュービク相やミセルなどの等方性の脂質相由来シグナルである可能性と、脂質懸濁液中の脂質粒子が比較的小さいベシクルとして分散している可能性が考えられる。測定後の CL4H6 含有脂質懸濁液の凝集は認められず、分散していたことから、後者の可能性を考えた。より詳細な多形解析のため、CL4H6/DSPS/POPC 脂質懸濁液の X 線小角散乱法による測定を行った。その結果、ラメラ相と逆ヘキサゴナル相の混合相であることが明らかとなった (図 5C)。以上の結果より、従来のリノール酸由来 (C18) 足場を有する pH 感受性カチオン性脂質はアニオン性脂質とイオン対を形成して逆ヘキサゴナル相へ転移する際、中性リン脂質を巻き込みやすいため、中性リン脂質による膜融合阻害作用を受けやすく、より長鎖の足場を有する pH 感受性カチオン性脂質は鎖長の違いによる混和性の低さにより、相転移の際に中性リン脂質が相分離するためにその阻害効果を受けにくいことが示唆された (図 5D)。

(5) まとめ

本研究により、既存の技術では叶わなかった組織内浸透に優れる 30 nm 以下の極小粒子径と遺伝子ノックダウン活性を両立可能な LNP 製剤を構築する上で必要な条件の同定と、そのメカニズムが明らかになった。これらの知見は pH 感受性カチオン性脂質の新たな分子設計戦略や極小 LNP の製剤処方戦略に大きく貢献すると期待される。今後は本知見を基に *in vivo* への応用と最適化を進める方針である。

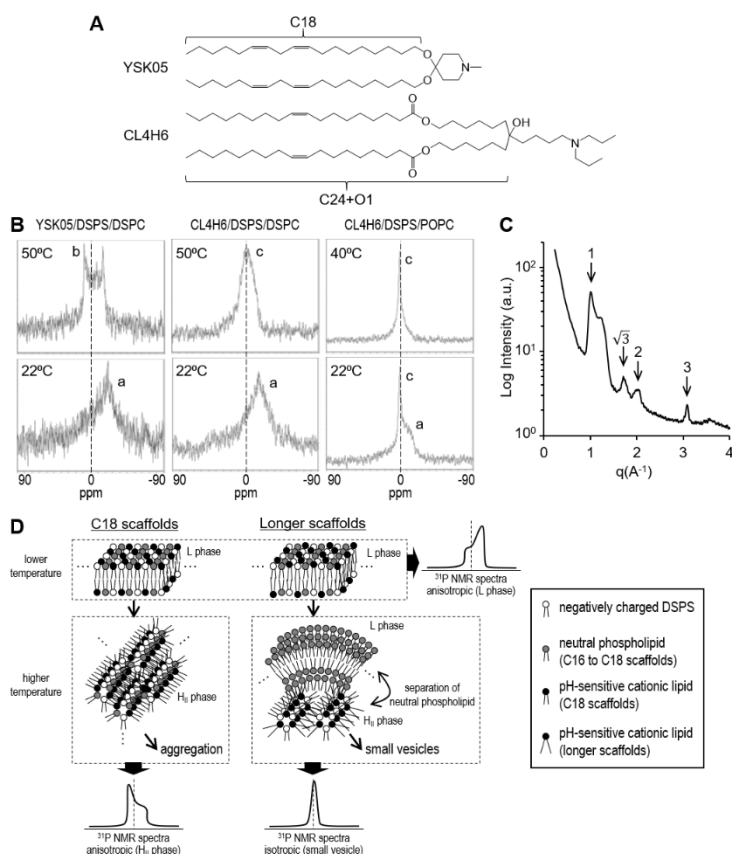


図 5 pH 感受性カチオン性脂質足場構造の脂質多形に与える影響 (A) pH 感受性カチオン性脂質 YSK05 および CL4H6 の化学構造。(B) プロトンデカップリング ^{31}P NMR 法による脂質懸濁液の脂質多形解析。a はラメラ相、b は逆ヘキサゴナル相、c は等方性相由来のシグナルを示している。(C) CL4H6/DSPS/POPC 脂質懸濁液の 60°C における X 線小角散乱法による解析。(D) pH 感受性カチオン性脂質足場構造の脂質多形に与える影響に関する概念図。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato Yusuke, Okabe Nana, Note Yusuke, Hashiba Kazuki, Maeki Masatoshi, Tokeshi Manabu, Harashima Hideyoshi	4. 巻 102
2. 論文標題 Hydrophobic scaffolds of pH-sensitive cationic lipids contribute to miscibility with phospholipids and improve the efficiency of delivering short interfering RNA by small-sized lipid nanoparticles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 341 ~ 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2019.11.022	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 Sato Yusuke, Hashiba Kazuki, Sasaki Kosuke, Maeki Masatoshi, Tokeshi Manabu, Harashima Hideyoshi	4. 巻 295
2. 論文標題 Understanding structure-activity relationships of pH-sensitive cationic lipids facilitates the rational identification of promising lipid nanoparticles for delivering siRNAs in vivo	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 140 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2019.01.001	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 Nakamura Takashi, Kawai Minori, Sato Yusuke, Maeki Masatoshi, Tokeshi Manabu, Harashima Hideyoshi	4. 巻 17
2. 論文標題 The Effect of Size and Charge of Lipid Nanoparticles Prepared by Microfluidic Mixing on Their Lymph Node Transitivity and Distribution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 944 ~ 953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01182	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 Khalil Ikramy A., Sato Yusuke, Harashima Hideyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Recent advances in the targeting of systemically administered non-viral gene delivery systems	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Expert Opinion on Drug Delivery	6. 最初と最後の頁 1037 ~ 1050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/17425247.2019.1656196	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 Nakamura Takashi, Yamada Yuma, Sato Yusuke, Khalil Ikramy A., Harashima Hideyoshi	4. 巻 218
2. 論文標題 Innovative nanotechnologies for enhancing nucleic acids/gene therapy: Controlling intracellular trafficking to targeted biodistribution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 119329 ~ 119329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2019.119329	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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 岡部奈々, 佐藤悠介, 真栄城正寿, 渡慶次学, 原島秀吉
2. 発表標題 siRNAデリバリーが可能な直径20 nmの極小脂質ナノ粒子の開発
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第145回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sato Y, Hashiba K, Hashiba A, Okabe N, Harashima H
2. 発表標題 Efficient delivery of macromolecules by molecular design of cationic lipids
3. 学会等名 Liposome Research Days 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----