

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08826

研究課題名(和文)細胞指向性送達理論に基づくエクソソーム捕捉型核酸医薬による多発性骨髄腫治療の開発

研究課題名(英文) Development of exosome-capturing antibody-conjugated nucleic acid medicines against multiple myeloma

研究代表者

芦原 英司 (Ashihara, Eishi)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70275197

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者が発見したエクソソーム(Exo)の細胞指向性送達理論に基づき、Exoの表面抗原CD63に対する抗体とsiRNAを結合させたExo捕捉型抗体薬物複合体を作製し、MM細胞にsiRNAを送達する“Exo捕捉型核酸医薬品”の基礎検討を行った。結果、Exo捕捉型抗体-siRNA複合体がMM細胞内に取り込まれ、この取り込みがエンドサイトーシス阻害剤で抑制されることを示した。次にMMの治療標的分子であるMYC、CTNNB1に対するsiRNAを搭載した複合体は、MM細胞におけるこれらのmRNA発現を有意に抑制した。以上より、本複合体がMMへの核酸医薬品の有効なDDSとなりうることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により、MM細胞から放出されたエクソソームがMM細胞に取り込まれることを利用し、“Exo捕捉型核酸医薬品”が多発性骨髄腫治療に有効である可能性が示された。この新技術は、有効なDDSが存在しない造血器腫瘍細胞や血液細胞への核酸医薬品送達へと応用できる。さらには固形腫瘍患者さんへの治療にも展開でき、また核酸医薬のみならず化学療法薬や分子標的治療薬の送達にも応用できる。本研究の技術は多くのがん患者さんに福音をもたらすことができる。

研究成果の概要(英文)：Although nucleic acid medicines are expected to function as new therapeutic agents, their targeted delivery into cancer cells, particularly hematologic cancer cells, via systemic administration, is limited. Based on our previous finding that tumor cell-derived exosomes are preferentially incorporated into their parental cancer cells, we developed exosome-capturing anti-CD63 mAb-conjugated small interfering RNAs (siRNA) with an arginine linker to deliver siRNAs into multiple myeloma (MM) cells. Anti-CD63 mAb-conjugated complexes were incorporated into MM cells. Moreover, these exosome-capturing mAb-conjugated siRNAs successfully decreased the mRNA transcript levels of targeted mRNAs in the MM cells. This technology could lead to a breakthrough in drug delivery systems for hematologic cancer therapy.

研究分野：血液内科学

キーワード：多発性骨髄腫 エクソソーム CD63 核酸医薬 抗体薬物複合体 造血器腫瘍 急性リンパ芽球性白血病 ドラッグデリバリーシステム

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

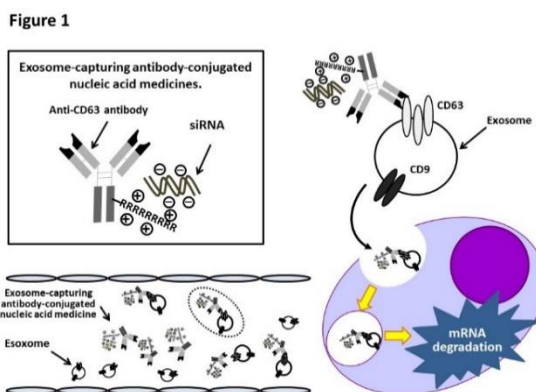
多発性骨髄腫 (MM) に対する治療成績は、新規治療薬の登場や造血幹細胞移植術の進歩により急速に向上してきているが、根治に至らない症例も少なからず存在する。研究代表者は、悪性腫瘍に対する分子標的治療薬の開発研究 (学術論文 60 編) に携わり、主に造血器悪性腫瘍を対象疾患として研究を行い、その一環として、がん分子標的治療薬としての核酸医薬に着目し、siRNA によるがん治療研究を行ってきた。しかし核酸医薬の造血器腫瘍細胞へ有効に送達する DDS 開発が遅れていることに着目し、さらなる治療成績の向上のため、新たな標的分子の探索および有効な drug delivery systems (DDSs) の開発研究も行ってきた。

siRNA、アンチセンス核酸などに代表される核酸医薬品は、次世代医薬品として大いに注目を集め、siRNA を細胞内に有効に導入するため種々の DDSs 開発が、多くの研究者により進められてきた。しかし血球細胞への導入効率が高い有効な DDS は未だ開発されていない。そこで研究代表者は腫瘍細胞表面の抗原に着目し、MM 細胞選択的送達を目指した抗体結合型 siRNA 薬の開発を手掛けた。その結果、CD138 抗体と核酸とのリンカーとしてオリゴアルギニンペプチドを用いた複合体を作製し、MM 細胞内に導入することに成功したが、その導入効率は極めて低いものであった。

エクソゾーム (Exo) とは、細胞間の情報伝達を担う直径が約 100 nm の小顆粒であり、正常細胞の生理機能および多くの疾患の病態形成に関わっている。代表研究者はがん幹細胞や転移といった悪性腫瘍の病態に関わる Exo の機能解明研究を行い、がん細胞から分泌された Exo が、高率的に分泌元のがん細胞に取り込まれることを世界で初めて明らかにした (Toda Y, Ashihara E, et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 456:768-773, 2015)。

2. 研究の目的

造血器腫瘍に対する有効な核酸医薬品の DDS の開発を目指し、研究代表者が発見した Exo の細胞指向性送達理論に基づき、Exo の表面抗原に対する抗体と siRNA を結合させた新規の機能分子を用いて、MM 細胞内に選択的に siRNA を送達する “Exo 捕捉型核酸医薬品” の開発を行う (Figure 1)。



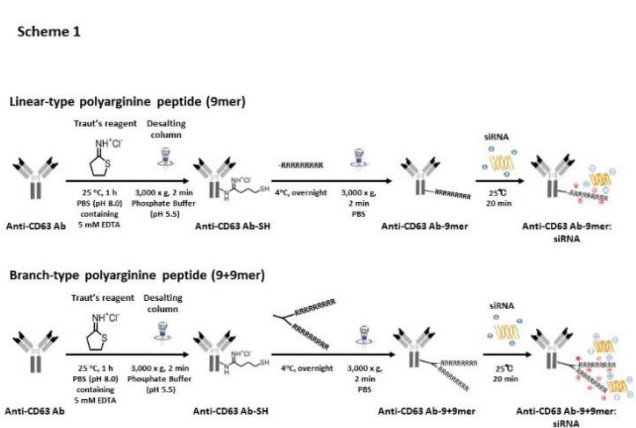
3. 研究の方法

1) 使用細胞株

ヒト MM 細胞株である OPM-2 細胞および NCI-H929 細胞、OPM-2 細胞にルシフェラーゼ (luc) + 遺伝子を搭載した OPM-2-luc+細胞、ならびにひと子宮頸がん細胞株である Hela 細胞を用いた。OPM-2 細胞、NCI-H929 細胞および OPM-2-luc+細胞は、最終濃度 10% に調整した。

2) 抗体-Arg ペプチド-siRNA 複合体合成

抗体結合型核酸の作製方法としてはプロタミンを用いる手法、liposome を用いる手法、siRNA の負電荷に着目したイオン結合に着目した方法、などがあるが、今回は siRNA の負電荷に着目したイオン結合を用いて抗体結合型核酸を作製した。Exo 表面に発現する CD63 に対する抗 CD63 抗体 (IgG) に対して 20 当量の 2 mg/mL Traut's Reagent を添加し (溶媒: PBS pH 8.0)、25°C で 1 時間反応させた。反応終了後、Zeba Spin Desalting Columns (40K MWCO) を用いてゲル



ろ過を行い、未反応の Traut' s Reagent を除いた。その後、SH 基に対して 10 等量のポリアルギニンペプチドを Traut' s Reagent 反応後の溶液に添加し、4°C, overnight で反応させた。ポリアルギニンペプチドとして、直鎖型リンカーである Cys(Npys)-(D-Arg)9 (9mer) あるいは分岐鎖型リンカーである (D-Arg) 9-Lys [(D-Arg) 9]-Cys (Npys)-NH₂ (9+9mer) を用いた。反応終了後、Zeba Spin Desalting Columns (40K MWCO) で未反応の 9mer あるいは 9+9mer を除き、siRNA を添加して 25°C で 15 分反応させた (Scheme 1)。

- 3) **Arg ペプチド鎖の違いによる Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体細胞内送達の検証**
ノンコーティング・ガラスボトムディッシュを使用して、抗体あるいは抗体結合型核酸が多発性骨髄腫細胞内に移行するかを共焦点レーザー顕微鏡 (LSM) で画像取得することにより検証した。フィブロネクチンでコーティングしたディッシュに OPM-2 細胞、AMO-1 細胞および NCI-H929 細胞をそれぞれ 3 x 10⁴ cells/well 播種し、そこに抗 CD63 IgG あるいは抗 CD138 IgG、作製した IgG-9mer ± siRNA, IgG-9+9mer ± siRNA を処置し、37°C, 5% CO₂, 24 時間反応させ、適宜 PBS(-) で洗浄後、2% PFA + 2.5% glutaraldehyde で細胞を固定し、Phalloidin, Hoechst33258 または calcein, Hoechst33258 で細胞を染色し、LSM で画像を取得した。次に、抗 CD63 抗体結合 siRNA 複合体の MM 細胞内送達を確認した。OPM-2-luc+細胞および NCI-H929 細胞を、フィブロネクチンをコートしたガラスボトムディッシュに播種し、抗 CD63 抗体結合 siRNA 複合体を 24 時間処置し、LSM で画像を取得した。

次に抗 CD63 抗体結合 siRNA 複合体が Exo を捕捉し細胞内に送達されたことを確認するため、Exo のマイクロピノサイトーシスを阻害するエンドサイトーシス阻害剤を処置し検証した。OPM-2-luc 細胞を 96 穴プレートに播種し、24 時間後にエンドサイトーシス阻害剤 Latrunculin A および Rottlerin (ともに 2 μM) を 45 分間処置した。FITC 標識した siRNA を結合させた抗 CD63 抗体複合体を 24 時間処置し、LSM にて画像を取得した。

- 4) **Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体による標的遺伝子抑制効果の検証**

Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) による標的遺伝子抑制効果を検討した。はじめに、抗 CD63 抗体結合 siRNA 複合体の効果検証のため、ヒト子宮頸がん細胞である Hela 細胞を用いて検討した。96 穴プレートに Hela 細胞を播種し、その翌日に直鎖型 9mer アルギニンリンカーを用いた抗 CD63 抗体 siRNA 複合体を抗体 : siRNA 比を 2.5 : 1 (750:300 (nM)) で合成し処置した。24 時間後、Lipofectamine 3000 を用いて pGL4 ルシフェラーゼレポーターベクターを導入し、マイクロプレートリーダーにて Luc 発光を測定した。次に OPM-2-luc+細胞を用いて、9mer アルギニンリンカーを用いた抗 CD63 抗体 siRNA 複合体 (抗体 : siRNA 比=1 : 1 (1500 : 1500 (nM)) の Luc 発光抑制効果を検証した。

次に、MM 治療に対する有効性を示してきた標的分子 β-catenin (CTNNB1) (Ashihara E, et al. *Clin Cancer Res*, 15:2731-2738, 2009; Yao H, Ashihara E, et al. *Blood Cancer J*, 1:e43, 2011) および c-MYC (MYC) (Imayoshi N, Ashihara E, et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 484:262-268, 2017) に対する siRNA を用いて、Exo 捕捉型複合体の標的分子 mRNA 発現変化を検討した。OPM-2-Luc+細胞を 96 穴プレートに播種し 24 時間後、分岐型 9+9mer アルギニンリンカーを用いた Exo 捕捉型複合体を処置した。CTNNB1 mRNA の発現評価では 48 時間、また MYC mRNA の発現評価では 96 時間、複合体を処置し、定量的 PCR 法にて発現変化を完投した。内部コントロールとして、18S rRNA mRNA を持ちいた。

- 5) **Exo 捕捉型核酸医薬複合体の生体内分布**

最後に、担がん動物モデルへの Exo 捕捉型 siRNA 複合体の生体内分布を検討した。抗 CD63 抗体 (IgG) と分岐型 9mer アルギニンを、上記 2)と同様に結合させ、Zeba spin カラムで精製した。コントロール siRNA に p-SCN-Bn-DTPA を添加し、Zeba spin カラムで精製後、¹¹¹InCl₃ を添加し標識した。PD-10 カラムに通じ、各分画の放射能を測定し、¹¹¹In-DTPA-siRNA と予想される画分を分取し Zeba spin カラムで再度精製し、抗 CD63 抗体 (IgG) と分岐型 9mer アルギニン複合体と反応させ、RI 標識された Exo 捕捉型 siRNA 複合体を作製した。

作製した Exo 捕捉型複合体を、雌の 10 から 15 週齢の免疫不全 Balb/c RJ (Rag2^{-/-}/Jack3^{-/-}) マウス (健常マウス、担がんマウス) より経静脈的に投与した。担がんモデルマウスでは、IVIS イメージング装置 Lumina IIXR を用いて、骨髄内に腫瘍細胞の生着を確認後、投与した。投与 40 時間後に安楽死させた。各臓器を摘出し、重量と放射能を測定後、%ID (%Injected dose : 投与放射線エネルギーに対する臓器ごとの放射能比

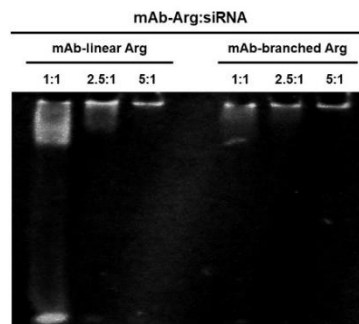
率)、%ID/g (%) (臓器単位重量あたりの放射能分布) を算出した。

4. 研究成果

1) 抗体-Arg ペプチド-siRNA 複合体合成の確認と抗体-siRNA 比率の検討

抗 CD63 抗体と核酸 siRNA の複合体 (mAb-Arg:siRNA) の合成の確認とリンカーの違いによる抗体-siRNA 比率検証するため、Native-PAGE を行った。Figure 2 に示すように、抗体-Arg ペプチド-siRNA 複合体は合成で、直鎖型 9mer アルギニンリンカーを用いた場合は、抗体とアルギニンリンカーの比率は 5 : 1 で、一方、分岐型 9+9mer アルギニンリンカーを用いた場合は、1 : 1 または 2.5 : 1 の比率であっても複合体の合成が確認された。このことから、分岐型 9+9mer アルギニンリンカーのほうが、直鎖型 9mer アルギニンリンカーを用いた複合体より、多くの siRNA を結合されることが示唆された。

Figure 2



2) Arg ペプチド鎖の違いによる Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体細胞内送達の相違

直鎖型 9mer アルギニンリンカーと分岐鎖型 9+9mer アルギニンリンカーによる MM 細胞内への siRNA 送達を比較検討した。抗体-アルギニンリンカー複合体:siRNA 比率は 5 : 1 (1500 : 300(nM)) で、OPM-2-luc+細胞への送達を LSM で検討した。直鎖型 9mer アルギニンリンカーを用いた複合体 (Figure 3A) に比して、分岐鎖型 9+9mer アルギニンリンカーを用いた複合体 (Figure 3B) のほうが、より多くの蛍光標識した siRNA を送達した。さらに、抗体-アルギニンリンカー複合体:siRNA 比率が 2.5 : 1 (750 : 300(nM)) においても、細胞内に送達できたことを確認した (Figure 3C)。また、この複合体は、NCI-H929 細胞に対しても比率を 1 : 1 (300 : 300(nM)) および 5 : 1 (1500 : 300(nM)) で、siRNA を細胞内に送達した (Figure 4)。以上のことから、抗 CD63 抗体・9+9mer アルギニンリンカー-siRNA 複合体は細胞内に送達されることが示された。以上のことから、アルギニンリンカーを用いた Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体は、MM 細胞内に送達され、分岐鎖型 9+9mer アルギニンリンカーの方が、その送達能が高いことが示唆された。

Figure 3

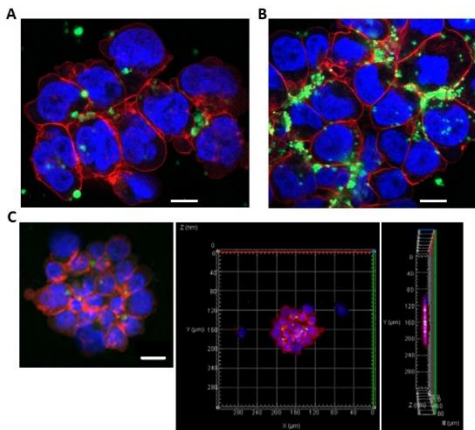
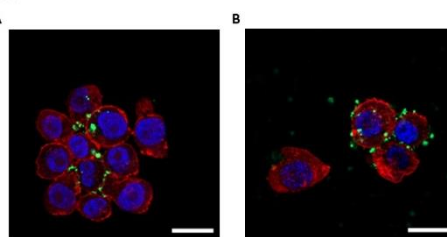


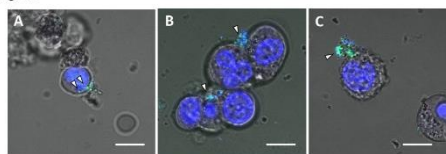
Figure 4



3) ミクロピノサイトーシス阻害による Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体の送達阻害

次に、この複合体が Exo を捕捉し、ミクロピノサイトーシスによる MM 細胞への取り込みにより送達されていることを示すため、エンドサイトーシス阻害剤の処置実験を行った。Vehicle 処置 (Figure 5A) に比して、Latrunculin A (Figure 5B) および Rottlerin (Figure 5C) いずれにおいても、抗 CD63 抗体 siRNA 複合体の OPM-2-luc+細胞への送達は阻害された。以上のことから、抗 CD63 抗体 siRNA 複合体は Exo を培養上清中で捕捉し、Exo が MM 細胞内に取り込まれることにより、MM 細胞内に送達されることが示唆された。

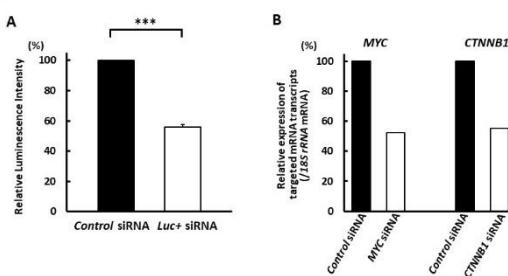
Figure 5



4) Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体による標的遺伝子抑制効果

次に、Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) による標的遺伝子抑制効果を検討するため、抗 CD63 抗体-分岐鎖型 9+9mer アルギニンリンカーと *luc*+siRNA を 1:1 (1500 nM) で結合させた Exo 捕捉型複合体を、OPM-2-Luc+細胞に導入した。OPM-2-Luc+細胞のルシフェラーゼ活性は、コントロール siRNA を結合させた複合体に比して、 $55.9 \pm 1.8\%$ まで抑制した ($p < 0.005$) (Figure 6A)。さらに、MM 治療の有望な標的分子である *CTNNB1* および *c-MYC* に対する siRNA を結合させた Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体は、*CTNNB1* および *c-MYC* mRNA をそれぞれ 52.5%、55.3% まで抑制した (Figure 6B)。

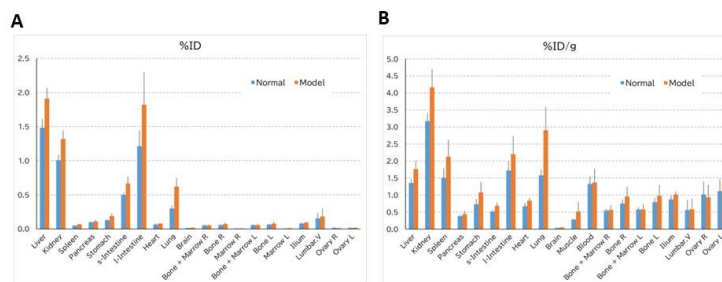
Figure 6



5) Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体の生体内分布

最後に、本 Exo 捕捉型核酸医薬 (siRNA) 複合体の生体内分布を検討した。 ^{111}In 標識した siRNA (10 nmol) を経尾静脈的にマウスに投与し、投与 40 分後にマウスを安楽死させ、各臓器を摘出した。各臓器重量と放射能を測定し、%ID、%ID/g を算出した。健常マウス群に比して、担がんモデルマウス群で %ID (Figure 7A)、%ID/g (Figure 7B) とともに軽度高い傾向を示した。また腎臓、肝臓および腸での放射能分布を認めた。これらの臓器は、本複合体の排泄経路の 1 つであることが考えられた。しかし今回の検討では、%ID にて腫瘍細胞の生着を認めた骨髄血への取り込みは、ほとんど認めなかった。また %ID/g にて、骨への取り込みがやや高い傾向にあったが、統計学的有意差は認めなかった。

Figure 7



6) 総括

本研究では、我々が発見した Exo の細胞指向性送達理論に基づき、Exo 捕捉型核酸医薬品 (siRNA) 複合体の MM 細胞に対する有効性を検証した。Exo 捕捉型核酸医薬品 (siRNA) 複合体は、MM 細胞内に送達され、有意に標的分子の発現を抑制した。また予備検討において、急性リンパ芽球性白血病 (ALL) 細胞に対する本複合体の送達を検討した結果、MM 細胞同様に送達され、かつ *BCL-2* siRNA は ALL 細胞の *BCL-2* mRNA 発現を抑制するとともに、ALL 細胞の細胞死を siRNA 容量依存性に誘導することを確認している (未発表データ)。これらのことは、本複合体が、造血器腫瘍細胞に対する核酸医薬品の有効な DDS となりうることを示唆している。一方、動物モデルを用いた検討では、腫瘍細胞の生着した骨髄への特異的な送達は認められなかった。これは siRNA の投与量が少ないことが原因と考える。今後、本複合体の投与量や投与回数を検討する必要がある。

本研究成果の一部は、”Successful Incorporation of Exosome-Capturing Antibody-siRNA Complexes into Multiple Myeloma Cells and Suppression of Targeted mRNA Transcripts. *Cancers*, 14:566, 2022 doi: 10.3390/cancers14030566” に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 21件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Soma Emi, Yamayoshi Asako, Toda Yuki, Mishima Yuji, Hosogi Shigekuni, Ashihara Eishi	4. 巻 14
2. 論文標題 Successful Incorporation of Exosome-Capturing Antibody-siRNA Complexes into Multiple Myeloma Cells and Suppression of Targeted mRNA Transcripts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 566 ~ 566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14030566	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 Imayoshi Natsuki, Yoshioka Makoto, Tanaka Kuniaki, Yang Shyh-Ming, Akahane Koshi, Toda Yuki, Hosogi Shigekuni, Inukai Takeshi, Okada Seiji, Maloney David J., Nakahata Tatsutoshi, Takita Junko, Kato Itaru, Ashihara Eishi	4. 巻 590
2. 論文標題 CN470 is a BET/CBP/p300 multi-bromodomain inhibitor and has an anti-tumor activity against MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 49 ~ 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.078	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 Amari Keigo, Sasagawa Satoru, Imayoshi Natsuki, Toda Yuki, Hosogi Shigekuni, Imamura Toshihiko, Ashihara Eishi	4. 巻 588
2. 論文標題 The CDK4/6-UCL5-BRD4 axis confers resistance to BET inhibitors in MLL-rearranged leukemia cells by suppressing BRD4 protein degradation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 147 ~ 153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.063	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 Tomogane Mako, Omura Maho, Sano Yusuke, Shimizu Daiki, Toda Yuki, Hosogi Shigekuni, Kimura Shinya, Ashihara Eishi	4. 巻 588
2. 論文標題 Expression level of BTN3A1 on the surface of CD14+ monocytes is a potential predictor of cell expansion efficiency	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 47 ~ 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.060	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 Tomogane Mako, Sano Yusuke, Shimizu Daiki, Shimizu Teruki, Miyashita Masatsugu, Toda Yuki, Hosogi Shigekuni, Tanaka Yoshimasa, Kimura Shinya, Ashihara Eishi	4. 巻 573
2. 論文標題 Human V 9V 2?T cells exert anti-tumor activity independently of PD-L1 expression in tumor cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 132 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.08.005	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 Kaneshita Shunya, Kida Takashi, Yoshioka Makoto, Nishioka Keisuke, Raje Mithun, Sakashita Aki, Hirano Aiko, Sagawa Tomoya, Kasahara Akiko, Inoue Takuya, Fujioka Kazuki, Nagahara Hidetake, Wada Makoto, Kohno Masataka, Strovel Jeffrey W., Fletcher Steven, Ashihara Eishi, Kawahito Yutaka	4. 巻 70
2. 論文標題 CG223, a novel BET inhibitor, exerts TGF- 1-mediated antifibrotic effects in a murine model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pulmonary Pharmacology & Therapeutics	6. 最初と最後の頁 102057 ~ 102057
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pupt.2021.102057	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 Furukawa Takenori, Kimura Hiroyuki, Torimoto Hanae, Yagi Yusuke, Kawashima Hidekazu, Arimitsu Kenji, Yasui Hiroyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 A Putative Single-Photon Emission CT Imaging Tracer for Erythropoietin-Producing Hepatocellular A2 Receptor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1238 ~ 1244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsmchemlett.1c00030	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 Kondo Yuto, Kimura Hiroyuki, Fukumoto Chiaki, Yagi Yusuke, Hattori Yasunao, Kawashima Hidekazu, Yasui Hiroyuki	4. 巻 64
2. 論文標題 Copper mediated radioiodination reaction through aryl boronic acid or ester precursor and its application to direct radiolabeling of a cyclic peptide	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 336 ~ 345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jlcr.3925	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 Yu, Kimura Hiroyuki, Fujimoto Hiroyuki, Kawashima Hidekazu, Toyoda Kentaro, Mukai Eri, Yagi Yusuke, Ono Masahiro, Inagaki Nobuya, Saji Hideo	4. 巻 52
2. 論文標題 Development of novel radioiodinated exendin-4 derivatives targeting GLP-1 receptor for detection of α -cell mass	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 116496 ~ 116496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2021.116496	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 Miyashita Masatsugu, Shimizu Teruki, Ashihara Eishi, Ukimura Osamu	4. 巻 22
2. 論文標題 Strategies to Improve the Antitumor Effect of T Cell Immunotherapy for Clinical Application	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8910 ~ 8910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22168910	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 Matsumoto Takahiro, Kitagawa Takahiro, Imahori Daisuke, Matsuzaki Atsushi, Saito Youhei, Ohta Tomoe, Yoshida Tatsusada, Nakayama Yuji, Ashihara Eishi, Watanabe Tetsushi	4. 巻 45
2. 論文標題 Linderapyrone: A Wnt signal inhibitor isolated from <i>Lindera umbellata</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 128161 ~ 128161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.128161	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 Hosogi Shigekuni, Marunaka Yoshinori, Ashihara Eishi, Yamada Tadaaki, Sumino Ayumi, Tanaka Hideo, Puppulin Leonardo	4. 巻 179
2. 論文標題 Plasma membrane anchored nanosensor for quantifying endogenous production of H ₂ O ₂ in living cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 113077 ~ 113077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2021.113077	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 Ryosuke Wakabayashi, Yasunao Hattori, Shigekuni Hosogi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara.	4. 巻 535
2. 論文標題 A novel dipeptide type inhibitor of the Wnt/b-catenin pathway suppresses proliferation of acute myelogenous leukemia cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 73-79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.12.027.	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 Asako Yamayoshi, Shota Oyama, Yusuke Kishimoto, Ryo Konishi, Tsuyoshi Yamamoto, Akio Kobori, Hiroshi Harada, Eishi Ashihara, Hiroshi Sugiyama, Akira Murakami.	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of Antibody-Oligonucleotide Complexes for targeting Exosomal microRNA.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceutic	6. 最初と最後の頁 545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics12060545.	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 Yoko Kado, Masayuki Tsujimoto, Shin-ichi Fuchida, Akira Okano, Mayumi Hatsuse, Satoshi Murakami, Hikofumi Sugii, Kumi Ueda, Yuki Toda, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi, Yuichi Muraki, Chihiro Shimazaki, Eishi Ashihara.	4. 巻 43
2. 論文標題 Factors associated with dose modification of lenalidomide plus dexamethasone therapy in multiple myeloma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 1253-1258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00337.	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 Takahiro Matsumoto, Daisuke Imahori, Youhei Saito, Wei Zhang, Tomoe Ohta, Tatsusada Yoshida, Yuji Nakayama, Eishi Ashihara, Tetsushi Watanabe	4. 巻 74
2. 論文標題 Cytotoxic activities of sesquiterpenoids from the aerial parts of <i>Petasites japonicus</i> against cancer stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Nat. Med.	6. 最初と最後の頁 689-701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-020-01420-x.	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 Eriko Kuroda, Kaneyasu Nishimura, Shohei Kawanishi, Mari Sueyoshi, Fumitaka Ueno, Yumiko Toji, Naoko Abo, Toko Konishi, Koki Harada, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Eishi Ashihara, Kazuyuki Takata	4. 巻 438
2. 論文標題 Mouse bone marrow-derived microglia-like cells secrete transforming growth factor- 1 and promote microglial A phagocytosis and reduction of brain A .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 417-228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-190974.	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 Yoshizawa M, Nakamura S, Sugiyama Y, Tamai S, Ishida Y, Sueyoshi M, Toda Y, Hosogi S, Yano Y, Ashihara E.	4. 巻 39
2. 論文標題 6-Hydroxythiobinupharidine Inhibits Migration of LM8 Osteosarcoma Cells by Decreasing Expression of LIM Domain Kinase 1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 6507-6513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13865.	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 Kuroda E, Takata K, Nishimura K, Oka H, Sueyoshi M, Aitani M, Kouda A, Satake S, Shima C, Toda Y, Nakata S, Kitamura Y, Ashihara E.	4. 巻 73
2. 論文標題 Peripheral Blood-Derived Microglia-Like Cells Decrease Amyloid- Burden and Ameliorate Cognitive Impairment in a Mouse Model of Alzheimer's Disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Alzheimers Dis.	6. 最初と最後の頁 413-429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-190974.	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 Toda Y, Yoshimura R, Itahara M, Imai Y, Yamada K, Uno T, Nakata S, Hosogi S, Takata K, Ashihara E.	4. 巻 39
2. 論文標題 DJ-1 Contributes to Self-renewal of Stem Cells in the U87-MG Glioblastoma Cell Line.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 5983-5990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13803.	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 Shimizu T, Miyashita M, Fujihara A, Hongo F, Ukimura O, Ashihara E.	4. 巻 26
2. 論文標題 Preclinical orthotopic xenograft model of renal pelvis cancer in which cancer growth could be traced by an in vivo imaging system.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 138-139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iju.13829.	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33件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 松井透磨, 戸田侑紀, 中井亮太, 横川碧, 板垣里奈, 細木誠之, 芦原英司.
2. 発表標題 pH-low insertion peptideを用いた転移予定臓器における組織酸性化の検出.
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Keigo Amari, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Toshihiko Imamura and Eishi Ashihara.
2. 発表標題 UCHL5 overexpression confers resistance to BETi in MLL-r leukemia cells by suppressing degradation of BRD4 protein.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Sugiyama, Seikou Nakamura, Kimika Yamaguchi, Yasunao Hattori, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara
2. 発表標題 A novel coumarin-based compound inhibits invasion and migration of osteosarcoma cells.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Hadate, Ryosuke Wakabayashi, Yasunao Hattori, Shigekuni Hosogi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara
2. 発表標題 A novel dipeptide type Wnt/ -catenin pathway inhibitor suppresses proliferation of acute myelogenous leukemia cells.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部智大, 保科亮太, 金澤道和, 佐々木洸介, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 湯浅哲也, 銭谷 勉.
2. 発表標題 3次元蛍光X線CTの開発：マウス脳灌流ex vivoイメージングの試み
3. 学会等名 日本分子イメージング学会第15回総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大村真穂, 友金眞光, 戸田侑紀, 細木誠之, 芦原英司,
2. 発表標題 Butyrophilin3A1の T細胞の増幅効率の予測マーカーとしての有用性.
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Kuniaki Tanaka, Shyh-Ming Yang, Koshi Akahane, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Takeshi Inukai, Seiji Okada, David J. Maloney, Itaru Kato, Eishi Ashihara.
2. 発表標題 ovel BET/CBP/p300 multi-bromodomain inhibitors as a strategy for MLL-rearranged ALL.
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keigo Amari, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Toshihiko Imamura, Eishi Ashihara..
2. 発表標題 Cdk4/6i Abemaciclib overcomes resistance to BETi in leukemic cells with MLL-AF5q31 fusion gene
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮下雅亜、友金眞光、佐野友亮、清水輝記、藤原敦子、浮村 理、芦原英司.
2. 発表標題 前立腺がん幹細胞に対する T細胞の抗腫瘍効果.
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 若林亮介、服部恭尚、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司.
2. 発表標題 急性骨髄性白血病に対する新規ペプチド型Wnt/ -catenin阻害剤の効果.
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 金眞光、宮下雅亜、佐野友亮、清水大器、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司.
2. 発表標題 T細胞の体外増幅培養における予測可能なバイオマーカーの探索.
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 佐野友亮、友金眞光、清水大器、宮下雅亜、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司.
2. 発表標題 低酸素環境に適応した多発性骨髄腫に対する T細胞の抗腫瘍効果.
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 松井透磨、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司.
2. 発表標題 骨髄系細胞が動員された前転移ニッチにおける乳酸アシドーシス.
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 宮下雅亜、友金眞光、清水輝記、藤原敦子、本郷文弥、芦原英司、浮村 理.
2. 発表標題 前立腺がん幹細胞に対する T細胞の抗腫瘍効果検討.
3. 学会等名 第29回泌尿器科分子・細胞研究会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keigo Amari, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Toshihiko Imamura, Eishi Ashihara.
2. 発表標題 Cdk4/6 inhibitor Abemaciclib overcomes resistance to BET inhibitor in leukemic cells with MLL-AF5q31 fusion gene.
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名	Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Shyh-Ming Yang, Koshi Akahane, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Takeshi Inukai, Seiji Okada, David J. Maloney, Jeffrey W. Strovel, Eishi Ashihara.
2. 発表標題	Application of BET/CBP/p300 multi-bromodomain inhibitors as a novel therapeutic strategy for MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia.
3. 学会等名	American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2020
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	河嶋秀和
2. 発表標題	小動物用SPECTによる低エネルギー 線放出核種画像化の試み
3. 学会等名	京都薬科大学-国際共同研究拠点(招待講演)(国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	大谷健太郎, 銭谷 勉, 河嶋秀和, 越野一博, 中野厚史, 山原研一, 犬伏正幸, 飯田秀博.
2. 発表標題	遺伝子発現イメージングを利用した移植細胞の時間・空間的追跡法の開発..
3. 学会等名	第19回日本再生医療学会学術総会.
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	金澤道和, 保科亮太, 佐々木洸介, 阿部智大, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 湯浅哲也, 銭谷 勉.
2. 発表標題	マルチピンホールX線蛍光CT画像再構成におけるEM-TVアルゴリズムの検討.
3. 学会等名	第39回日本医用画像工学会大会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 保科亮太, 金澤道和, 佐々木洸介, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 銭谷 勉, 湯淺哲也.
2. 発表標題 ラット脳ex vivoイメージングのためのピンホール型蛍光X線CTにおける入射強度補正
3. 学会等名 第39回日本医用画像工学会大会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古川武典, 木村寛之, 鳥本英恵, 屋木祐亮, 河嶋秀和, 有光健治, 安井裕之.
2. 発表標題 Erythropoietin-producing hepatocellular (Eph) A2受容体を標的としたSPECTイメージングプローブの合成と基礎評価
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会, .
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 若林亮介, 服部恭尚, 羽立祐貴, 戸田侑紀, 細木誠之, 赤路健一, 芦原英司.
2. 発表標題 急性骨髄性白血病に対するWnt/ β -catenin経路阻害効果を有する新規抗がん剤の抗腫瘍効果.
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 友金眞光, 中村暢彦, 小原章央, 村上成美, 尾下玲子, 今西孝至, 小林篤史, 宇野進, 渡辺康介, 楠本正明, 芦原英司.
2. 発表標題 在宅医療における大学院がん専門薬剤師育成プログラム (在宅チーム医療研修) の構築.
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松井透磨、戸田侑紀、沢田瑛子、浅山菜々子、板原多勇、中井亮太、横川 碧、細木誠之、芦原英司。
2. 発表標題 骨髄系細胞が動員された前転移ニッチにおける乳酸アシドーシス。
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryosuke Wakabayashi, Yasunao Hattori, Yusuke Sano, Yuki Sugiyama, Natsuki Imayoshi, Makou Tomogane, Keigo Amari, Yuki Toda, Kazuya Kobayashi, Shigekuni Hosogi, Kenichi Akaji, Eishi Ashihara.
2. 発表標題 Anti-tumor effects of a novel Wnt/ β -catenin pathway inhibitor against acute myelogenous leukemia.
3. 学会等名 The 3rd International Cancer Research Symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keigo Amari, Natsuki Imayoshi, Yusuke Sano, Yuki Sugiyama, Makou Tomogane, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Toshihiko Imamura Eishi Ashihara.
2. 発表標題 Leukemic cells with MLL-AF5q31 fusion acquire BET inhibitor resistance by upregulation Bcl-2 expression.
3. 学会等名 The 3rd International Cancer Research Symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Emi Soma, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Asako Yamayoshi, Eishi Ashihara
2. 発表標題 Development of exosome-capturing antibody-conjugated nucleic acid medicines targeting multiple myeloma cells.
3. 学会等名 The 61st Annual Meeting of the American Society of Hematology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujihara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara
2 . 発表標題 standard anticancer agents increase the cytotoxicity of human V 9V 2T cell via upregulation of NKG2D ligands in bladder cancer cells.
3 . 学会等名 American Urological Association Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Sayaka Nakayama, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara
2 . 発表標題 Increased exosome secretion is essential for myeloma stem cells to survive in hypoxic condition.
3 . 学会等名 The 8th Congress of the International Society for Extracellular Vesicles (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Yuki Toda, Saeka Ukai, Akari Kobayashi, Shin-ya Morita, Eishi Ashihara
2 . 発表標題 Exosomal lipids applicable to cancer targeting.
3 . 学会等名 The 8th Congress of the International Society for Extracellular Vesicles (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujihara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara
2 . 発表標題 Low dose gemcitabine increases the sensitivity of human Vgamma9Vdelta2T cell mediated cytotoxicity through NKG2D-NKG2D ligands axis in bladder cancer cells.
3 . 学会等名 American Association for Cancer Research Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Toda, Sayaka Nakayama, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara
2. 発表標題 Increased exosome secretion is a way of hypoxic adaptation in multiple myeloma cells.
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Myeloma
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山雄輝、山下正行、中村誠宏、長谷川功紀、西口大生、笠原愛実、吉澤正人、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司
2. 発表標題 Coumarin-based compounds inhibit migration and invasion of murine osteosarcoma LM-8 cells.
3. 学会等名 第28回日本がん転移学会学術集会・総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 芦原英司	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカ出版	5. 総ページ数 358
3. 書名 ナーシング・グラフィカ 健康の回復と看護 疾病と治療	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都薬科大学・生命薬科学系・病態生理学分野 https://labo.kyoto-phu.ac.jp/seiri/seiri-j.html 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立 http://labo.kyoto-phu.ac.jp/bunshi/index.html</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	戸田 侑紀 (Toda Yuki) (40779724)	京都薬科大学・薬学部・助教 (34306)	
研究分担者	河嶋 秀和 (Kawashima Hidekazu) (70359438)	京都薬科大学・薬学部・准教授 (34306)	

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