

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」  
平成 13 年度採択研究代表者

片岡 一則

(東京大学大学院工学系研究科 教授)

「遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製」

## 1. 研究実施の概要

本研究構想のコンセプトは、ウイルスの機能と構造に学びつつ、合成高分子や脂質分子の的確な自己組織化を通じて、ウイルスの宿主細胞への感染機能を模したナノ構造デバイスを構築し、さらには、磁場や熱などの外場応答機能や天然の核酸医薬を越える機能性人工核酸の搭載、遺伝子以外の薬物やセンサー物質を標的細胞に送達するといった、いわば天然のウイルス機能を超越するインテリジェント・ナノ構造デバイスを創製する事である。この様な「インテリジェント・ナノ構造デバイス」は、ウイルスベクターに代わる安全でかつ高機能の合成ベクターとして遺伝子治療分野において広範な応用が期待出来るとともに、数々の知的資産の形成を通じて新産業の育成にも貢献する事が確信される。本プロジェクトの第二年目に相当する平成 14 年度においては、昨年度に引き続いて戦略目標達成に向けてのプラットフォーム構築として細胞内環境応答機能を的確に捉えるための新規方法論の開発を行うとともに高分子ミセル型ならびにエンベロープ型ナノ構造デバイスへのインテリジェント機能の創り込みを推進した。すなわち、①レーザー共焦点顕微鏡の活用による単一細胞内における蛍光エネルギー移動計測法の開発ならびに細胞内ナノ構造デバイス分布の定量的評価法の確立、②細胞内還元環境あるいはエンドソーム内低pH環境下で内包DNAを放出する環境応答機能のデバイスへの創り込み、③優れたエフェクター機能達成のための機能性核酸設計、④エンドソームから細胞質へのスムーズな移行を達成するためのソーティング素子の探索、⑤ナノ構造デバイス内部におけるDNA分子の凝縮状態の評価、という主要 5 項目に関してグループ内の緊密な連携の元、系統的な研究を実施した。また、次年度以降の本格的なin vivo展開に備えて、臨床研究機関との間での共同研究体制の確立を行った。

## 2. 研究実施の内容

片岡グループでは、昨年度に引き続いて、細胞内取り込みならびに細胞内動態を高次に制御可能な高分子ミセル型ナノ構造デバイスの構築を推進した。特に、細胞内還元環境に応答した物性変化を誘起する機能をナノ構造デバイスに創り込む事によって、培養細胞系における遺伝子発現効率と細胞内動態を制御可能である事を明らかとした。また、昨年

度から開始した原子間力顕微鏡などを用いた詳細な構造解析をより一層推進する事によって、高分子ミセル型ナノ構造デバイスの形態を明らかとするとともに、内包DNAの凝縮状態を詳細に把握する検討にも着手した。一方、内包DNAについては、プラスミドDNA、オリゴ核酸に加えて最近、急速に注目を浴びているsiRNAへの展開をも推進し、ナノ構造デバイスへの搭載によってsiRNAの干渉作用が大幅に増強される事を確認した。

#### 1) インテリジェント型ナノ構造デバイスの機能検証と細胞内動態の解明

昨年度は、細胞内化学環境変化（グルタチオン濃度の上昇）に応答して内包DNAを制御放出するデバイス（インテリジェント型ナノ構造デバイス）構築が可能である事を明らかとした。本年度はさらに、このようなインテリジェント型ナノ構造デバイスの細胞内機能を、レポーター遺伝子の発現効率から評価した。その結果、ポリエチレングリコール（PEG）-ポリ（L-リジン）（PLL）ブロック共重合体のPLL側鎖アミノ基を一部スルフィドリル基（SH基）で置き換え、ジスルフィド架橋を施す事によって、細胞外酸化環境では内包プラスミドDNA（pDNA）を安定に保持し、細胞内還元環境下においては架橋の解離に伴うpDNAの制御放出を通じて、架橋を施さないPEG-PLL系に比較して一桁以上の発現効率向上を実現する事に成功した。さらに、発現効率の点で至適な高分子組成を決定するとともに、原子間力顕微鏡観察から単一のpDNA分子を凝縮状態で内包する会合体が形成されている事を確認した。

#### 2) 単一細胞内における蛍光エネルギー移動計測法の確立

ナノ構造デバイスの細胞内動態の検証にあたっては、デバイス内部からのDNA分子放出過程を単一細胞レベルで把握する方法論の確立が必要である。そこで、昨年度に確立したドナー・アクセプター蛍光二重標識DNAにおける蛍光エネルギー移動を利用したDNA凝縮過程評価法を単一細胞レベル計測へと展開した。すなわち、レーザー共焦点顕微鏡下でのFRET効率の変化を2次元情報として記録する事によって、個々の細胞レベルでナノ構造デバイスからのDNA放出を経時的に捉える事に成功した。本方法論を用いる事によって、DNA凝縮を惹起する事が知られているポリカチオンであるポリエチレンジアミンにおいて、その分岐度が細胞内におけるDNA凝縮ならびに分布に顕著な影響を及ぼす事を初めて明らかとした。

#### 3) 細胞内取り込み並びに動態制御を目指したナノ構造デバイス設計

昨年度に引き続いて高分子ミセル型ナノ構造デバイスの細胞内取り込み並びに細胞内動態制御を目指して新たなブロック共重合体設計を行った。具体的にはPEG-ポリ（ $\alpha$ -ベンジルアスパルテート）ブロック共重合体側鎖ベンジル基の定量的アミノリシスによってpKaや疎水性などの異なる各種アミノ基を導入する方法論を確立した。この手法を用いて一連の構造の異なるPEG-ポリカチオンブロック共重合体の合成に既に成功しており、次年度以降、発現効率や細胞内動態を解明して行く基盤が構築された。また、ブロック共重合体末端に定量的に反応性官能基を導入する手法を確立し、細胞内移行を促進するペプチドリガンド（oligo-arginineなど）の装着を系統的に行う準備が整った。一方、物理的環境変化（温度、光など）を利用する系については本プロジェクトにおいて新たに合成法

を確立したポリ（2- イソプロピルオキサゾリン）について詳細な分子量制御のための条件確立を行うとともに末端への定量的官能基導入法の検討を行い、次年度以降のブロック共重合体への展開に備えた。また、photo-assisted gene transfectionへの展開を目指してデンドリマー型光増感剤内包ナノ構造デバイスの構築を行い、デバイス内包に伴い、光増感作用が最高で300倍向上する事を確認した。

#### 4) 機能性核酸搭載の為のナノ構造デバイス構築と機能検証

昨年度着手した機能性オリゴ核酸を搭載可能なナノ構造デバイスであるブロック共重合体／リン酸カルシウム有機-無機複合ナノデバイスについて細胞内核酸デリバリー機能を詳細に検討した。特に、新しい核酸医薬として急速に関心が高まっているsiRNAを本複合型ナノ構造デバイスに内包する方法論を確立し、培養細胞系において顕著なRNA干渉作用を引き起こす事に成功した。また、長崎グループとの連携の元、PEG-オリゴ核酸ブロック共重合体の合成手法を確立し、その環境応答機能の確認を行った。一方、pDNA内包系については、構造-機能相関を明らかとする研究の一環として、ナノ構造デバイス内におけるpDNA凝縮構造解明をS1 nucleaseによるDNA鎖切断を指標として行った。その結果、ナノ構造デバイスへの内包に伴い、S1 nucleaseによる規則的DNAフラグメント化が生起する事が明らかとなり、デバイス中においてpDNAが何らかの規則的凝縮構造を示すとの知見を得た。

#### 5) ナノ構造デバイスのin vivo機能評価に向けた検討

来年度以降において予定されているナノ構造デバイスの本格的in vivo機能検討に備えて、動物実験系の立ち上げを行った。すなわち、培養細胞系において有用性が確認された系について、マウスを用いた生体内安定性評価ならびにin vivo遺伝子発現機能を予備的に検討し、ナノ構造デバイス内包による血中安定性の向上ならびに肝臓でのレポーター遺伝子の発現を確認した。また、複数の臨床研究機関との間での共同研究体制を構築し、特に東京大学医学部とは「東大医工連携プログラム」に沿って共同実験室の東大病院内への開設などの基盤構築を推進した。

原島グループでは、1) エンベロープ型ナノ構造デバイスの基本構築方法の確立、2) 遺伝子の細胞内動態の定量的評価方法の確立、3) 核内転写制御システムの開発、の3点について以下のような検討を行った。

#### 1) エンベロープ型ナノ構造デバイスの基本構築方法の確立

遺伝子をポリカチオン（分子量30000のポリ（L-リジン））でコンパクションし、粒子径約100 nmでゼータ電位約30 mVの遺伝子・ポリカチオン複合体を形成した。デタージェントダイアリシス法(DD法)により、脂質2重膜で遺伝子・ポリカチオン複合体をコーティングした。未封入の脂質膜を除去するために、ショ糖密度勾配遠心法により脂質2重膜でコートした複合体のみを精製し、粒子径約120~150 nm、ゼータ電位は-20~-30mVの複合体を得ることに成功した（エンベロープ型ナノ構造体）。片岡研究室との共同で、原子

間力顕微鏡にて、粒子の構造について検討したところ、粒子径約 80–200 nm の粒子を観察することができた。次年度は、本エンベロープ型ナノ構造体の遺伝子発現効率について検討を行うとともに、多機能性の付与方法について検討を行っていく。

## 2) 遺伝子の細胞内動態の定量的評価方法の確立

遺伝子の細胞内動態の素過程の解析について、(i)エンドソーム・ライソソーム系、(ii)細胞質、(iii)核の3種のコンパートメントの識別方法の確立から着手した。エンドソーム・ライソソーム系はLysosensor DND189で、核はHoechst33258で識別を行った。遺伝子はローダミンによりラベルした。NIH3T3細胞へリポフェクタミンにより遺伝子導入を行い、レーザー共焦点蛍光顕微鏡で観察した。z軸方向に20枚の切断面を作成し、各x-y平面において、エンドソーム・ライソソーム系、細胞質、核のそれぞれの領域に存在するローダミン標識遺伝子量を定量した。その結果、細胞内の3次元空間に存在する遺伝子のオルガネラ局在量を定量的に評価することが可能となった。次年度以降、量子ドット（長崎より量子ドット標識プラスミドを供給予定）で遺伝子あるいはキャリアーをラベル化することで、より定量的な評価系の確立を行っていく。

## 3) 核内転写制御システムの開発

プラスミドの核内発現効率に及ぼすサイズとトポロジーの影響について検討した結果、直線化プラスミドの発現効率が高いことが明らかとなった。次に、DNAのメチル化が遺伝子発現効率に及ぼす影響について検討を行ったところ、メチル化を抑制する事によって遺伝子発現効率を著しく向上出来る事が明らかとなった。次年度は、直線化プラスミドの発現効率に及ぼすメチル化の効果についても検討を行うとともに、これらの効果がin vivoにおいても再現されるかについての検討を行っていく。

長崎グループでは、1) センシング→プロセッシング→エフェクター活性という一連の動作を的確に行うインテリジェント・ナノ構造デバイスの創製と機能評価および、2) プラスミドDNAの細胞内動態の新規定量法に有用であるPEG化半導体量子ドットの調製を検討した。

## 1) インテリジェント・ナノ構造デバイスの創製と機能評価

特にこれまで着目してきたポリエチレングリコール(PEG)/ポリアミンブロック共重合体以外に、新たにインテリジェント・ナノ構造デバイス創製のため、PEG末端にリガンド導入部位（アセタール基）を有するエステル結合連結型PEG/オリゴDNAコンジュゲートの合成法を確立した。また、アセタール-PEG/オリゴDNAコンジュゲートは水中で直鎖状ポリエチレンイミン（ポリカチオン）とN/P比（カチオン電荷/アニオン電荷）=1で混合させることにより100 nm程度の単分散なポリイオンコンプレックス(PIC)ミセルを形成することを確認した。さらに、このPICミセルはDNA分解酵素および10%血清存在下でも安定に存在し、かつエンドソーム内のpH条件(=5.5)でエステル結合が切断されることを確認した。すなわち、DNA分解酵素および血清存在下という生理条件下においてはPICミセルの構造は

変化せず、エンドソーム内のpH条件で選択的にエステル結合が切断される事から、インテリジェント・ナノ構造デバイスとして有用である事が明らかとなった。

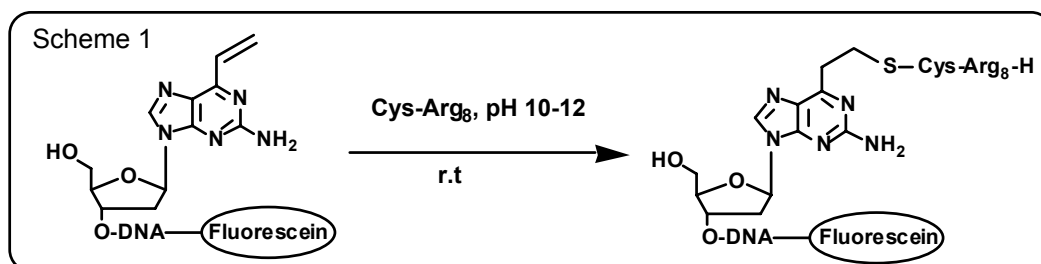
## 2) PEG化半導体量子ドットの調製法検討

本グループですでに合成法を確立した、ヘテロ二官能性PEGおよび末端官能基を有するPEG/ポリメタクリル酸2-*N,N*-ジメチルアミノエチル(PAMA)ブロック共重合体を用い、粒径制御可能なPEG化半導体量子ドット(CdSeおよびCdS)の調製法を確立した。これらPEG化半導体量子ドットは、水中においても高い分散安定性と強い発光を示し、かつ粒径により発光色を制御できることを見いだした。さらに、PEG化半導体量子ドットは、その末端に官能基を有していることからプラスミドDNAの配列特異的なラベル化も可能である。すなわち、PEG化半導体量子ドットは、その蛍光が有機蛍光分子に比べ退光しにくく強度も高いことから、プラスミドDNAの細胞内移行過程の定量的な評価に有用であることが明らかとなった。

佐々木グループでは、高分子ミセル型ナノ構造体に搭載する機能性核酸の設計と機能発現の検討を行っている。平成14年度は、特異的かつ効率的な塩基変換を達成するための機能性核酸の分子設計を行い、その機能評価を行った。具体的には次の3項目を検討した。

### 1) 細胞透過性向上を目指したオリゴアルギニン結合オリゴDNAの合成

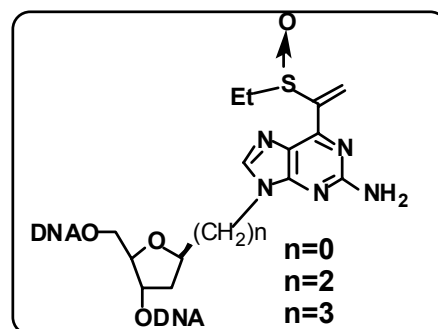
オリゴアルギニンは多くのシグナルペプチドに共通にみられるペプチドであり様々な巨大分子の細胞透過性を向上させることが報告されている。そこで本年度は細胞透過性向上を目指した分子として、オリゴアルギニンを結合させたオリゴヌクレオチド(ODNs)の合成を行った。その合成法として、我々が開発した2-amino-6-vinylpurine誘導体を利用することで、非常に効率よくオリゴアルギニンを結合させた蛍光標識オリゴマーの合成に成功した(Scheme1)。



さらにこの蛍光標識オリゴヌクレオチドを用いて細胞内の透過性の評価を行ったところ、ポリアルギニンを持たないオリゴヌクレオチドに比べ、効率よく細胞内へ取り込まれることがわかった。

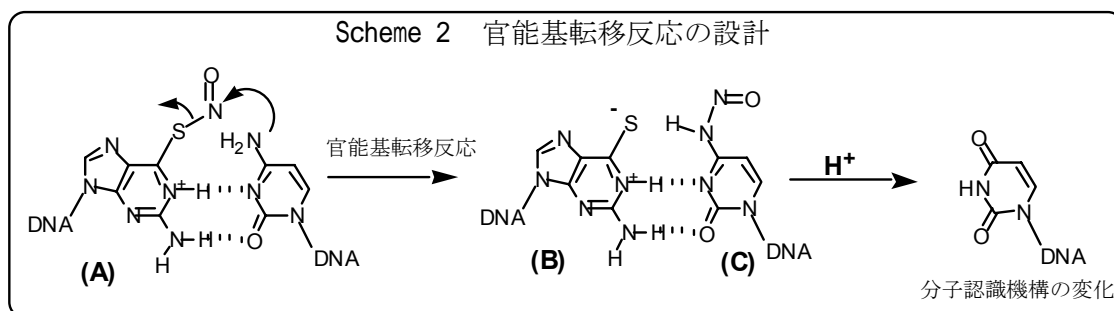
## 2) 中性条件下3本鎖形成により反応するクロスリンク剤の開発

我々は既に2本鎖内で中性条件下効率よく反応する分子の開発(右図 n=0)に成功している。今年度はこの構造を基本として右図に示す分子(n=2, 3)を設計、これを組み込んだオリゴマーを合成し、その反応性の評価を行った。その結果これらのオリゴマーは求核剤に対する反応性は有するものの安定な3本鎖を形成することが出来ず、クロスリンク反応しないことがわかった。現在さらに安定な3本鎖を形成し反応する構造について検討中である。



## 3) 官能基転移反応の検討

化学的に塩基分子認識構造を変化させるため、官能基転移反応としてscheme2に示す反応を設計し、このオリゴマー(A)を合成した。これを用いてシトシンに対するNOの転移反応を検討したところ、標的位置にシトシンを含む時のみ反応が進行し(B)を生成するが、他の3つの塩基(アデニン、グアニン、チミン)を含む標的に対して反応は進行せず、シトシンに対してNOの転移が起こっていることが示唆された。さらに(C)の構造について検討を行っているが、酸処理によりウリジンに変化した可能性が高いものと考えられる。(特許申請中)



## 3. 研究実施体制

(1) 片岡グループ (リーダー: 片岡一則)

①研究者名: 片岡一則 (東京大学大学院工学系研究科・教授)

②研究項目: 「高分子ミセル型ナノ構造デバイスの創製と研究の統括」

1) インテリジェント型ナノ構造デバイスの機能検証と細胞内動態の解明

2) 単一細胞内における蛍光エネルギー移動計測法の確立

3) 細胞内取り込み並びに動態制御を目指したナノ構造デバイス設計

4) 機能性核酸搭載の為のナノ構造デバイス構築と機能検証

5) ナノ構造デバイスのin vivo機能評価に向けた検討

(2) 原島グループ (リーダー: 原島秀吉)

①研究者名: 原島秀吉 (北海道大学大学院薬学研究科・教授)

②研究項目：「エンベロープ型ナノ構造デバイスの創製」

- 1) エンベロープ型ナノ構造デバイスの基本構築方法の確立
- 2) 遺伝子の細胞内動態の定量的評価方法の確立
- 3) 核内転写制御システムの開発

(3) 長崎グループ (リーダー：長崎幸夫)

①研究者名：長崎幸夫 (東京理科大学基礎工学部・教授)

②研究項目：「ナノ構造デバイス構築のための高分子精密設計」

- 1) インテリジェント・ナノ構造デバイスの創製と機能評価
- 2) PEG化半導体量子ドットの調製法検討

(4) 佐々木グループ (リーダー：佐々木茂貴)

①研究者名：佐々木茂貴 (九州大学大学院薬学研究院・教授)

②研究項目：「機能性核酸の設計と機能発現評価」

- 1) 細胞透過性向上を目指したオリゴアルギニン結合オリゴDNAの合成
- 2) 中性条件下3本鎖形成により反応するクロスリンク剤の開発
- 3) 官能基転移反応の検討

4. 主な研究成果の発表 (論文発表および特許出願)

(1) 論文発表

- Harada-Shiba, M., Yamauchi, K., Harada, A., Takamisawa, I., Shimokado, K., and Kataoka, K., *Gene Therapy* 9(6), 407-414, 2002. Polyion complex micelles as vectors in gene therapy--pharmacokinetics and in vivo gene transfer.
- Itaka, K., Harada, A., Nakamura, K., Kawaguchi, H., and Kataoka, K., *Biomacromolecules* 3(4), 841-845, 2002. Evaluation by fluorescence resonance energy transfer of the stability of nonviral gene delivery vectors under physiological conditions.
- Jule, E., Nagasaki, Y., and Kataoka, K., *Langmuir* 18(26), 10334-10339, 2002. Surface plasmon resonance study on the interaction between lactose-installed poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactide) block copolymer micelles and lectins immobilized on a gold surface.
- Kakizawa, Y., and Kataoka, K., *Langmuir* 18(12), 4539-4543, 2002. Block copolymer self-assembly into monodisperse nanoparticles with hybrid core of antisense DNA and calcium phosphate.
- Yamamoto, Y., Yasugi, K., Harada, A., Nagasaki, Y., and Kataoka, K., *J. Control Release* 82(2-3), 359-371, 2002. Temperature-related change in the properties relevant to drug delivery of poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactide) block copolymer micelles in aqueous milieu.

- Jule, E., Nagasaki, Y., and Kataoka, K., *Bioconjug. Chem.* 14(1), 177-186, 2003. Lactose-installed poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactide) block copolymer micelles exhibit fast-rate binding and high affinity toward a protein bed simulating a cell surface. A surface plasmon resonance study.
- Nishiyama, N., Koizumi, F., Okazaki, S., Matsumura, Y., Nishio, K., and Kataoka, K., *Bioconjug. Chem.* 14(2), 449-457, 2003. Differential gene expression profile between PC-14 cells treated with free cisplatin- and cisplatin-incorporated polymeric micelles.
- Nishiyama, N., Stapert, H. R., Zhang, G.-D., Takasu, D., Jiang, D.-L., Nagano, T., Aida, T., and Kataoka, K., *Bioconjug. Chem.* 14(1), 58-66, 2003. Light-harvesting ionic dendrimer porphyrins as new photosensitizers for photodynamic therapy.
- Otsuka, H., Uchimura, E., Koshino, H., Okano, T., and Kataoka, K., *J. Am. Chem. Soc.* 125(12), 3493-3502, 2003. Anomalous binding profile of phenylboronic acid with N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) in aqueous solution with varying pH.
- Zhang, G.-D., Nishiyama, N., Harada, A., Jiang, D. L., Aida, T., and Kataoka, K., *Macromolecules* 36(4), 1304-1309, 2003. PH-sensitive assembly of light-harvesting dendrimer zinc porphyrin bearing peripheral groups of primary amine with poly(ethylene glycol)-b-poly(aspartic acid) in aqueous solution.
- Uwatoku, T., Shimokawa, H., Abe, K., Matsumoto, Y., Hattori, T., Oi, K., Matsuda, T., Kataoka, K., and Takeshita, A., *Circulation Res.* 92(7), e62-e69, 2003. Application of nanoparticle technology for the prevention of restenosis after balloon injury in rats
- Kamiya, H., Yamazaki, J., and Harashima, H., *Gene Therapy* 9, 1500-1507, 2002. Size and topology of exogenous DNA as determinant factors of transgene transcription in mammalian cells.
- Kamiya, H., Fujimura, Y., Matsuoka, I., and Harashima, H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 298, 591-597, 2002. Visualization of intracellular trafficking of exogenous DNA delivered by cationic liposomes.
- Yamazaki, J., Harashima, H., and Kamiya, H., Enhanced transgene transcription in mammalian cells by decreasing DNA methylation in bacteria. (submitted)
- Yamazaki, J., Harashima, H., and Kamiya, H., Improving transgene expression in mammalian cells by linearizing exogenous DNA: presence of an optimal length of DNA dumbbell. (submitted)



- Khalil, I. A., Futaki, S., Niwa, M., Baba, Y., Kaji, N., Kamiya, H., and Harashima, H., Mechanism of improved gene transfer by the N-terminal stearylation of octaarginine: Enhanced cellular association by hydrophobic core formation. (submitted)
- Nagatsugi, F., Matsuyama, Y., Maeda, M., and Sasaki, S., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12, 487-9, 2002, Selective cross-linking to the adenine of the TA interrupting site within the triple helix.
- Nagatsugi, F., Sasaki, S., Miller, P. S., and Seidman, M.M., *Nucleic Acids Res. Supplement*, 2, 31-32, 2002, A new reactive nucleoside analogue for highly reactive and selective cross-linking reaction to cytidine under neutral conditions.
- Md. Monsur, Ali, Nagatsugi, F., Yamamoto, F., Maeda, M., and Sasaki, S., *Nucleic Acids Res. Supplement*, 2, 149-150, 2002, 2-Amino-6-vinylpurine as a tool of post synthetic conjugation of oligonucleotides with radio-, spin-, fluorescence label and peptides.
- Taniguchi, Y., Takahashi, R., Kodama, K., Senko, Y., Maeda, M., and Sasaki, S., *Nucleic Acids Res. Supplement*, 2, 34-35, 2002. Selective formation of non-natural type triplexes containing TA interrupting sites with the TFO incorporating W-shape nucleic acid (WNA) analogs.
- Nagatsugi, F., Sasaki, S., Miller, P. S., and Seidman, M. M., *Nucleic Acids Res.*, 6, e31-e40, 2003, Site-specific mutagenesis by triple-helix forming oligonucleotides containing a reactive nucleoside analogue.

#### 総説

- Kakizawa, Y., Kataoka, K., *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 54(2), 203-222, 2002. Block copolymer micelles for delivery of gene and related compounds.
- Otsuka, H., Nagasaki, Y., Kataoka, K., *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 55(3), 403-419, 2003. PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications.
- 秋田英万, 紙谷浩之, 原島秀吉. 生物医学研究・先進医療のための最先端テクノロジー: ドラッグデリバリーシステム, DDSの新たな展開, 田畑泰彦編集遺伝子医学別冊, 細胞内動態制御による新しいDDSの開発 (印刷中).
- 佐々木茂貴、永次史、遺伝子発現機構を標的とする核酸医薬品の新しい化学、ファルマシア、2003年1月.
- 佐々木茂貴、遺伝子発現の化学的制御を目指した機能性認識分子の創製、薬学雑誌 122(12), 1081-1093 (2002).
- 佐々木茂貴、遺伝子を標的とする細胞内DDSとしてのオリゴヌクレオチド、Drug Delivery System, 17(6), 478-485 (2002).

○ 佐々木茂貴、ゲノムケミストリー（講談社サイエンティフィック）.  
著書（章分担）

○ Nishiyama, N., Kataoka, K., Polymeric micelle drug carrier systems: PEG-PAsp(Dox) and second generation of micellar drugs. In "Polymeric Drugs in the Clinical Stage (Advances in Experimental Medicine and Biology Vol. 519), Eds., Maeda, H., Kabanov, K. V., Kataoka, K., Okano, T., Kluwar, New York, 155-177, 2003.

○ Kataoka, K., Zhang, G.-D., Delivery systems of photosensitizers for photodynamic therapy of cancer. In "Advances in Biomaterials and Drug Delivery Systems", Eds., Hsiue, G.-H., Okano, T., Kim, U. Y., Sung, H.-W., Yui, N., Park, K. D., Prinston Pub., Taipei, 343-362, 2003.

(2) 特許出願

2件