

15 - 21 がん化学療法におけるドラッグデリバリーシステム

(DDS)の開発に関する研究

主任研究者 国立がんセンター 松村保広

本研究の成果については、病理、薬理、材料工学、生化、臨床的研究からもたらされた。Drug delivery system にとって腫瘍血管および腫瘍組織の構築を知ることは重要である。抗がん剤抵抗性の胃がんや膵がんの腫瘍血管の電顕的研究からこれらの腫瘍血管は基底膜が重層化し、筋繊維芽細胞は随所ががん細胞に密着している。また内皮細胞の腫大などみられ薬剤ががん細胞に到達しにくくなっていることが判明した。DDS 製剤としてはカンプトテシン、タキソール、シスプラチンのミセル化に成功した。リポソーム製剤ではファージディスプレイ法で得られた腫瘍血内皮に親和性のあるペプチドを付加したアドリアマイシン内包リポソームが作製され抗腫瘍効果の増強が認められた。臨床ではアドリアマイシン内包イムノリポソーム MCC-465 の臨床第 1 相試験が行なわれている。ミセルではタキソール内包ミセル NK105 の臨床第 1 相が順調に進んでいる。

研究者名	所属施設および職名
松村保広	国立がんセンター研究所支所 部長
横山昌幸	神奈川科学技術アカデミー高分子ナノメ ディカルプロジェクトリーダー
奥直人	静岡県立大学薬学部 教授
川口隆憲	福島県医科大学病理学 講師
濱口哲弥	国立がんセンター中央病院 医師

逆に分子標的剤特有の有害事象が問題とされつつある。がん治療におけるドラッグデリバリーシステム(DDS)の役割は抗がん剤や毒素、あるいは放射性物質を化学修飾またはミセルやリポソームなどのナノキャリアに封入するという工夫をすることにより、抗がん剤などの正常組織への集積を抑えつつ、がん組織に選択的に集積させることにある。すでに国立がんセンターではアドリアマイシンあるいはタキソール内包ミセルの臨床試験が始まっている。本研究班ではヒト固形腫瘍の間質や脈管の構造に基づく DDS 製剤の開発を旨とし、シスプラチンやタキソール、カンプトテシンなどの抗がん剤内包ミセルあるいは腫瘍血管指向性ペプチド付加リポソームの研究開発を行い、前臨床試験そして臨床試験のすみやかな開始を企てるものである。

総括研究報告

1 研究目的

本研究の目的は、化学療法は確実に進歩してはきているが、消化器系や呼吸器系のがんにおいてはまだ有効性が低く満足いく治療法として一般的に認知されていない。最近、分子標的薬剤が脚光を浴びているが、一部の悪性腫瘍を除き、がんは多数の遺伝子変化のうえに成立するし、また遺伝子の発現も強弱はあるものの真にがん特異的とはいえないので、ある特定の分子のみを阻害する、いわゆる分子標的剤のみではがんの根治は望めないし、

分担研究課題

- 1) 腫瘍脈管の特性に基づく DDS 製剤の開発
- 2) 難溶性抗がん剤の高分子ミセルによるターゲティング

- 3) 腫瘍新生血管標的化 DDS によるがん治療
- 4) 腫瘍細胞と脈管の相互関係に関する病理組織学的、電顕的研究
- 5) DDS 製剤の臨床導入に関する研究

2 研究成果

本年度の成果は、

1) 腫瘍脈管の特性に基づく DDS 製剤の開発 (背景) シスプラチン (CDDP) は種々の悪性腫瘍に広く使用されている重要な抗がん剤であるが、骨髄抑制、消化器症状、神経障害、腎毒性などの有害事象が発現することが知られており、特に神経障害や腎毒性に関しては治療効果が持続していても治療中止を余儀なくされることも経験する。(目的) ポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロックコポリマーのポリグルタミン酸と CDDP との配位結合によりシスプラチン内包ミセル体 (C/M) を作製し、抗腫瘍効果及び毒性に関して薬理的、神経生理学的に比較検討した。特に、腫瘍血管の特性としての EPR 効果による C/M の腫瘍特異的集積、また神経組織においては神経行動学、神経生理学、神経病理学および ICP/MS を使ったプラチナの神経集積について詳細に検討した。(結果) C/M の粒子サイズ分布は非常に狭くサイズのピークは約 40 ナノメートルであった。ラットを使った薬物動態研究においては、C/M 投与群の血中プラチナ濃度の AUC 値 ($1123.8 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$) は、CDDP 投与群の AUC 値 ($55 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$) と比べ約 20 倍高値を示した。正常組織における分布のしやすさを示す V_{dss} においては C/M が CDDP の約 100 分の 1 と低値であり C/M が正常組織に分布しにくいことを示す。しかしながら、肝臓などの網内系においては C/M は外殻をポリエチレングリコールが覆っており stealth 効果を保持しているとはいえ、やはり高分子であるが故に CDDP より高い集積をしめした。それにともない生化学的にも C/M 投与群において一過性の肝機能障害を認めた。しかしながら 2 週目には回復した。一方腎機能に関しては、 $10\text{mg}/\text{kg}$ 投与において CDDP 投与群では致死的な BUN とクレアチニン値の上昇を認めたのに対し、同等量の C/M 投与において腎毒性はまったく認められなかった。このことは病理学的にも証明された。抗腫瘍効果においてはヌードマウス皮下移植ヒト胃がん細胞において比較された。 $2.5\text{mg}/\text{kg}$ 投与においても $5\text{mg}/\text{kg}$ 投与においても両者間には有意な差は認められなかったが、C/M のほうが高い傾向が認められた。神経毒性に関しては $2\text{mg}/\text{kg}$ を毎週 1 回計 6 回にわたり反復投与後、神経行動学、尾神経における感覚神経伝導速度、坐骨神経における神経線維の電子顕微鏡所見

など詳細に調べられ、C/M 投与群において CDDP における神経障害が著しく抑制されることが判明した。このことは神経組織におけるプラチナ濃度が CDDP 投与群より C/M 投与群が半分以下になることによるものであることが分かった。(考察) CDDP のミセル内包化により CDDP の抗腫瘍効果が低下することなく腎毒性や神経毒性が著しく抑えられることが分かった。このことは臨床において長期投与を可能にし、腎障害がないので大量の点滴も不要のため外来治療を可能にすることが示唆される。

2) 難溶性抗がん剤の高分子ミセルによるターゲティング (研究目的) 高分子ミセル型ドラッグキャリアシステムとは、親水・疎水などの不均質な構造のブロックあるいはグラフトコポリマーからミセル構造を形成させ、薬物を化学的結合あるいは物理的吸着によりミセル内核に封入したものである。典型的には粒径が $10 \sim 100 \text{nm}$ の範囲にあり、その粒径分布も狭い。生体環境下でも安定なナノサイズ微粒子を得る技術として、高分子ミセルは大変優れている。特に、疎水性が強く水に不溶か極めて溶けにくい薬物を安定に封入して、ターゲティングすることに好適な薬物キャリアシステムである。既に、抗がん剤アドリアマイシン、タキソールを内包した高分子ミセルを用いて、*in vivo* 抗がん活性の増進を得、がん組織への選択性高い集積を得ている。このように、高分子ミセルは薬物キャリアシステムとして有用であるが、薬物が高分子ミセルに封入されるだけでは不十分で、高分子の組成と薬物封入量を制御して初めてターゲティングが達成されることがわかっている。高分子ミセルを形成するブロックコポリマーの組成と薬物の化学構造・封入量は、粒径・表面物性・安定性・薬物放出速度等の高分子ミセル諸物性を規定し、この諸物性がターゲティングを決定する。しかし、これらの要素と相互の関連を系統的に解析した研究はない。本研究では、抗がん剤カンプトテシンを固形癌に効率よくターゲティングする高分子ミセルシステムを得るとともに、非水溶性抗癌剤を安定にミセル内核に封入するための、高分子設計理論の構築を目的とする。

(研究結果) (1) 高分子の合成高分子ミセルを形成するブロックコポリマーは、PEG-ポリ(アスパラギン酸)ブロックコポリマーの側鎖にベンジルエステルを $44 \sim 75 \text{mol}\%$ 導入した PEG-P(Asp(Bzl)) である。また、 100% ベンジル化で、アミノ酸ユニットが —アミドのみの PEG-PBLA も用いた。薬物の封入は、カンプトテシン (CPT) とブロックコポリマーを CHCl_3 に溶かし、溶媒を蒸発させてから、蒸留水を入れて超音波照射をして高分子ミセルを得た。ミセル封入効率は UV 吸収で、また、

ミセル封入安定性は水系のGPCで評価し、ゲル排除体積にミセルとして流出するCPTの量が大きいほど安定性が高いとした。CPT収率はベンジルエステル69%で最大となった。仕込みのCPT/ポリマー=40%で、収率は85%となり、少なくともミセル中の30%がCPTであるという高い薬物含量のミセルが得られた。封入安定性はPEG-P(Asp(Bzl))では、いずれもかなり高いものであったが、ベンジル化率が高まるにつれて安定性も高まる傾向が見られた。おもしろいことに100%ベンジル化のPEG-PBLAでは安定性はとても低い値を示した。また、—アミドのみで66%ベンジル化のブロックコポリマーでも、—アミドが約75%を占めるPEG-P(Asp(Bzl))には封入安定性は遙かに及ばなかった。以上のことは、疎水性薬物の高分子ミセルへの封入挙動を最適化する上で、単に疎水性の強さのみではなく、適切な疎水基の密度と間隔が重要な因子であることがわかった。(2) 血液中の動態 EPR効果を利用して固形がんターゲットングするためには、血液中を安定に長時間循環することが必要条件になる。その理由は、高分子ミセルを含む微粒子製剤が血液から腫瘍血管を透過して腫瘍組織に移行する速度は、低分子の薬物が腫瘍組織に移行する速度に比べて著しく小さい事実による。微粒子製剤がこの小さな移行速度を跳ね返して多量の抗癌剤を固形がん組織に運搬されるためには、血液中に存在する濃度と時間を大きくすることが求められることとなる。

そこで、マウスに静脈注射し、カンプトテシンの血液中濃度をHPLCによって測定した。ブロックコポリマーとしてはベンジル化率の44%のもの(PEG-P(Asp(Bzl44)))と63%のもの(PEG-P(Asp(Bzl63)))の2種類を用いた。ベンジル化率の低い方は静脈内投与後に速やかに血液より消失し、投与4時間後には投与量のわずか0.1%程度が血液中に存在しすぎなかった。この値はカンプトテシンを従来処方エマルジョン投与した場合と違いがほとんどなかった。

これに対し、ベンジル化率の高いPEG-P(Asp(Bzl63))では投与4時間後にも投与量の約6%が見いだされ、安定な血液循環が確認された。このような組成ではEPR効果に基づく固形がんへのターゲットングが期待される。次年度にはin vivo抗癌活性試験を行う予定である。(3) アルブミンへの結合能 カンプトテシンでは以下の理由により特に需要である。その理由とは、カンプトテシンは非水溶性で抗癌活性のあるラクトン体と水溶性で非活性であるカルボキシレート体の間に平衡が成り立っている。アルブミンの結合はこの平衡に影響し、特にヒトアルブミンはカルボキシレート体に強く結合することで平

衡をカルボキシレート体にずらし、カンプトテシンの薬理活性を減少させる。そこで、各種アルブミンと血清存在下で、活性のラクトン体がいかに安定に高分子ミセルに封入されているかを評価した。用いたポリマーはベンジル化率69%のもので、安定な血液循環を示したPEG-P(Asp(Bzl63))とほぼ同じ血液中の動態を示す。この高分子ミセルにカンプトテシンを内包し、一定時間各種アルブミンあるいは血清存在でインキュベートした後、水系のゲルパーミエーションクロマトグラフで内包されているカンプトテシンの割合を定量した。内包カンプトテシンの95%以上は活性のラクトン体である。まず、マウス、ウシ、ヒトのアルブミン存在下では、PBSのコントロールに比べてウシアルブミン(BSA)が封入安定性を増し、ヒトアルブミン(HSA)が封入安定性を少しだけ減少させることがわかった。この結果はHSAがカルボキシレート体に強く結合することが知られている事実と良く一致する。活性のラクトン体を維持することに不利に働くHSA存在下でも相当なラクトン体の封入安定性を示したことは、この組成の高分子ミセルがカンプトテシンのキャリアーとして優れたものであることを示している。次にウシのfetal bovine serumとヒトの血清存在下での封入安定性を比較した。いずれの場合も、アルブミン単独よりも封入安定性は減少していた。この事実、血清中にアルブミン以外の封入を不安定化する要素があることを示している。しかし、いずれも8時間インキュベート後にも65%以上という相当な封入安定性を示していた。

3) 腫瘍新生血管標的化DDSによるがん治療 固形がんの維持、成長には、栄養や酸素を補給するための腫瘍血管が新生される必要がある。この腫瘍新生血管は脆弱で透過性が亢進しており、100 nm程度の薬剤キャリアがEPR効果によりパッシブに腫瘍間質に蓄積するために、これまでパッシブターゲットングを利用した抗がん剤のDDS製剤化が試みられてきた。現在、ダウノルピシン内封のDaunoXome、ドキシソルピシンを含むポリエチレングリコール(PEG)修飾リポソームDoxil(欧州ではSchering-PloughがCaelyxとして販売)、同じくドキシソルピシンを含む脂質複合体Myocet(転移性乳がん治療のために欧州で販売)が上市されている。しかしながらパッシブターゲットングには限界があり、キャリアを用いる利点は主に副作用の軽減に主眼がおかれてきた。より効率的なアクティブターゲットングが同時に試みられてきたが、がんを標的とする場合に血流からのがん組織への移行はパッシブターゲットングによらざるを得ない。

本研究は血流から直接標的化できる新生血管内皮細胞

15-21 がん化学療法におけるドラッグデリバリーシステム(DDS)の開発に関する研究

に着目し、標的化DDSを試みた。新生血管内皮細胞は増殖性の細胞であり、抗がん剤で傷害を受けることが期待された。実際に、phage displayed peptide library法を用いて腫瘍新生血管に親和性を有するペプチドAPRPGを選別し、リポソーム化することにより、腫瘍新生血管特異的に抗がん剤を送達できることが明らかとなった。さらに、新生血管を標的とする治療法は、従来のがんを標的とする治療に比べて、薬効の増強が確認された。本年度は、この腫瘍新生血管傷害療法の改良と機構解明を目的に検討を行った。まず、APRPG修飾リポソームに長期血中滞留性を付与するために、APRPGのPEG化脂質を合成し、長い血中滞留性を保持したまま血管内皮細胞を認識させるリポソームの調製を試みた。抗腫瘍効果の検討に先立ち、APRPG-PEG修飾リポソームの性状、体内動態、および腫瘍内分布の検討を行った。このリポソームは血清中でほとんど凝集性を示さなかったこと、さらに血清中においてADMの放出はほとんどみられなかったことから、ADM内封APRPG-PEG修飾リポソームは血中で安定であることが示唆された。そこで、APRPG-PEG修飾リポソームの体内動態をPositron emission tomography (PET)により解析したところ、未修飾リポソームと比較してPEGおよびAPRPG-PEG修飾リポソームはがん組織により多く集積することが明らかとなった。また、肝臓および脾臓のPET画像から、未修飾リポソームは肝臓、脾臓に対し高い集積性を示したが、PEGおよびAPRPG-PEG修飾リポソームでは肝臓や脾臓によるトラップを回避している傾向が見られた。さらに、より長時間の体内動態を調べるため放射標識したリポソームの体内分布を測定した。未修飾リポソームは肝臓や脾臓に集積しており、24時間後にはほとんど血中には存在しなかったのに対し、PEGおよびAPRPG-PEG修飾リポソームは細網内皮系によるトラップを回避し、24時間後においても血中に存在することが認められた。また、PEG修飾することで血中滞留性が上昇したことを反映して、24時間後では腫瘍集積性が増大した。さらに、PEG修飾リポソームよりもAPRPG-PEG修飾リポソームの方が有意に高く腫瘍に集積することが明らかとなった。次に、腫瘍内におけるリポソームの分布を確認するため、がん移植マウスに蛍光標識したリポソームを投与した2時間後の腫瘍切片を作製し、血管内皮細胞を免疫蛍光染色した。その結果、PEG修飾リポソームは血管外に漏出し集積するのみであったのに対し、APRPG-PEG修飾リポソームは血管外への漏出に加え、血管内皮細胞に接着もしくは取り込まれていることが観察された。さらに、*in vitro*でのヒト血管内皮細胞への取り込み実験において、PEG

修飾により細胞への親和性は減少するが、PEGの先端をAPRPG修飾することで取り込みが増加することが明らかとなった。

PEGおよびAPRPG-PEG修飾リポソームは腫瘍組織に多く集積することが示されたため、最後にADMを内封したリポソームにより抗腫瘍効果についての検討を行った。APRPG-PEG修飾ADMリポソーム投与群では未修飾ADMリポソーム、PEG修飾ADMリポソーム投与群、APRPG修飾ADMリポソーム投与群と比較して顕著に腫瘍増殖を抑制し、さらに体重減少による副作用もみられなかった。

以上の結果から、腫瘍新生血管を標的とすることは直接がん細胞を標的とするよりも効果的ながん治療が可能であり、APRPG-PEG修飾リポソームは腫瘍新生血管傷害療法の新規DDSキャリアとして有用であることが示された。

4) 腫瘍細胞と脈管の相互関係に関する病理組織学的、電顕的研究 ヒト膵癌とラット腫瘍(LY80・腹水肝癌)の腫瘍血管・間質の特性を病理組織学的、電子顕微鏡的に研究した。また癌細胞のリンパ行性転移に関わると考えられる異常糖鎖を有する蛋白質を研究した。研究1 ヒト膵癌で、中心に未熟毛細血管を有し周囲に未熟血液系細胞と未熟間葉系細胞を配する構造体を透過型電子顕微鏡的に同定した。これを「未熟間葉系類構造体」と名づけた。免疫組織学的にこの構造体はCD3+, c-kit+であった。膵癌は癌細胞と腫瘍血管の間に大量の線維・線維芽細胞・筋線維芽細胞を有するが、これらの間質線維成分は未熟間葉系類構造体うちの未熟間葉系細胞に由来すると考えられた。膵臓癌細胞から線維芽細胞・筋線維芽細胞の増殖を誘発する因子が大量に放出されるとすれば癌細胞と腫瘍血管の間に繊維成分が介在する現象が説明できる。研究2 ラット腹水肝癌AH109A細胞を腹部皮下に移植後に発生する腫瘍を研究した。興味あることに腫瘍血管の出現する以前に癌細胞の周囲に明瞭な間葉系細胞の構造体が形成され、ここから腫瘍間質が形成されると考えられた。この類構造体は1週間前後までは腫瘍血管が優位でその後線維・線維芽細胞が主体となった。現在までこの類構造体は筋膜から発生しCD34+, CD31+, c-kit+, Sca-1+細胞からなることが確認された。研究3 癌細胞のリンパ行性転移に関わると考えられる異常糖鎖を有する蛋白質の分離・精製をすすめてきたが、今年度はラット腹水肝癌AH109A細胞・腹水が~30kDaのVicia villosa agglutinin結合糖鎖を有するMUC1分子を産生していることが判明した。

1.5 - 2.1 がん化学療法におけるドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発に関する研究

5) DDS 製剤の臨床導入に関する研究 要旨 本研究では、わが国のすぐれたナノテクノロジー技術により開発された DDS 系抗がん剤を臨床導入するための臨床試験体制の構築をめざす。リポソーム製剤については、リポソーム表面にがん細胞表面認識抗体を結合した製剤により通常のリポソーム製剤で有効性がみられなかった癌種での臨床応用をめざし、消化器癌を対象とした臨床第相試験をおこなっている。ミセル製剤についてはタキソールをミセル化することにより、抗腫瘍効果の増強および副作用とくに末梢神経障害の軽減が可能となることが前臨床試験により示された。そこでタキソール内包ミセルの臨床第相試験を平成 16 年 4 月より当院で開始し、現在症例集積中である。

イムノリポソームアドリアマイシン内包 PEG (ポリエチレングリコール) リポソームである doxil は、臨床において消化器系がんには有効性が示されていない。MCC465 はアドリアマイシン内包 PEG リポソームに新規モノクローナル抗体 GAH の F(ab')₂ が付加されたイムノリポソームである。現在の時点で GAH が認識する抗原は明らかにはされていないが、消化器がんを中心に 70% 以上の陽性率をしめす。従って、MCC465 は passive targeting と active targeting の両方を兼ね備えているといえる。そこで、胃がん、大腸がん、食道がんを対象に週 1 回投与、3 週連続を 1 コースとする臨床第相試験を行った。初回投与量を 15mg/m² として副作用を観察しながら 15 20 25 30 35mg/m² と増量した。用量制限毒性は骨髄抑制であり推奨投与量は 30mg/m² となった。推奨投与量における各癌種での有効性を検討するための症例集積が完了し、現在、治療経過を観察中である。残念ながら、今のところ奏効例はみられておらず、今後はアドリアマイシン感受性のある卵巣がんや乳がんでの開発や、消化器系がんにおいても他剤との併用療法を検討していく予定である。

NK105 はタキソール内包ミセル体であり外殻を PEG が覆うため血中安定性に富み、内核はポリアスパラギン酸とタキソールからなるコア・シェル型ミセルであり、前臨床試験では腫瘍指向性の向上(腫瘍内 AUC で 25 倍)が確認されている。大腸癌細胞株 HT-29 移植マウスを用いた vivo での腫瘍縮小効果の検討では、通常タキソール 100mg/kg 投与群と NK105 の 25mg/kg 投与群との間で同等の抗腫瘍効果がみられ、さらに NK105 の 100mg/kg 投与群では全例で腫瘍が消失した。また一般臨床においてタキソールの蓄積性末梢神経障害のために患者 QOL の低下のみならず、抗腫瘍効果が得られているにもかかわらず神経障害のために治療休止もしくは中止を余儀な

くされることが問題となっている。また現在神経障害を軽減させる支持療法も確立していない。そこで基礎的検討において NK105 による末梢神経障害を病理的および電気生理学的に検討したところ、NK105 により神経毒性が軽減することが確認された。一方、タキソールはミセル体のほかに、リポソーム封入体やポリマーを付加した剤型も開発されている。リポソームはタキソールが疎水性制癌剤であるがゆえに効率よく封入することができなかった。ポリマー付加製剤における臨床試験では可溶化剤であるクレモホアなしに投与できることから過敏症の発現がなくなったものの神経毒性の軽減は確認されていない。よって NK105 により神経毒性が軽減できれば、患者に対する負担の軽減および QOL の向上に繋がることが期待できる。そこで、平成 16 年 4 月より標準治療に抵抗性となりタキソールの前治療歴のない固形腫瘍患者を対象に臨床第相試験を開始した。初回投与量は 10mg/m² とし、accelerated titration method により 10 20 40 80mg/m² と増量した。そこでは DLT を認めなかったものの安全性の観点から modified Fibonacci method にて 110 150mg/m² と増量し経過観察中である。可及的早急に臨床第相試験を完遂させ、臨床第相および第相試験へ展開していく予定である。

3 倫理面への配慮

動物実験は各施設の動物倫理委員会の了承を得て実施するものとし、当該委員会が設置されていない場合にも、自主的に動物愛護の観点から BAAA などのガイドラインに準拠して行った。

臨床第 I 相試験においては新 GCP に従い施設内倫理審査の承認を得たうえで慎重に行なっている。

研究成果の刊行発表

外国語論文

1. Y Matsumura Phase I and Pharmacokinetic Study of MCC-465, a doxorubicin (DXR) encapsulated in PEG-immunoliposome, in patients with metastatic stomach cancer. *Annals Oncol* 15:517-525, 2004.
2. T Hamaguchi, Y Matsumura Antitumor effect of MCC-465, pegylated liposomal doxorubicin tagged with newly developed monoclonal antibody GAH, in colorectal cancer xenografts. *Cancer Science*. 95: 608-613, 2004.
3. T Hamaguchi, Y Matsumura A phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle-encapsulated doxorubicin. *British Journal of*

4. T. Hamaguchi, Y. Matsumura NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumour activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel. *British Journal of Cancer*. (In press)
5. M. Yokoyama, et al.. Polymer design and incorporation method for polymeric micelle carrier system containing water-insoluble anti-cancer agent camptothecin. *J. Drug Targeting*, **12(6)**, 373-384 (2004).
6. P. Opanasopit, M. Yokoyama, et al., Block copolymer design for camptothecin incorporation into polymeric micelles for passive tumor targeting. *Pharmaceutical Research*, **21(11)**, 2003-2010 (2004)
7. Oku, N. and Namba, Y.: Glucuronate-modified, long-circulating liposomes for the delivery of anticancer agents. *Methods in Enzymology* 391, 145-162 (2005)
8. Oku, N. and Asai, T.: Liposomalized oligopeptides in cancer therapy. *Methods in Enzymology* 163-176 (2005)
9. Shimizu, K., Oku, N. et al.: Antineovascular therapy, a novel antiangiogenic approach. *Expert Opin. Ther. Targets*, 9, 63-76 (2005)
10. Maeda, N., Oku, N. et al.: Anti-neovascular therapy by use of tumor neovasculature-targeted long-circulating liposome. *J. Controlled Release* 100, 41-52 (2004)
11. Yamakawa, S., Oku, N. et al.: (-)-Epigallocatechin gallate inhibits membrane-type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP, and tumor angiogenesis. *Cancer Lett.*, 210, 47-55 (2004)
12. Kondo, M., Oku, N. et al.: Anti-neovascular therapy by liposomal drug targeted to membrane type-1 matrix metalloproteinase. *Int. J. Cancer*, 108, 301-306 (2004)
13. Takeuchi, Y., Oku, N. et al.: Intracellular target for photosensitization in cancer antiangiogenic photodynamic therapy mediated by polycation liposome. *J. Controlled Release*, 97, 231-240 (2004)
14. Ichikawa, K., Oku, N. et al.: Antiangiogenic photodynamic therapy (PDT) using visudyne causes effective suppression of tumor growth. *Cancer Lett.*, 205, 39-48 (2004)
15. Tamura, M., Oku, N. et al.: In vivo trafficking of endothelial cell precursors and their possible involvement in tumor neovascularization. *Life Sci.*, 75, 575-584 (2004)
16. Shimizu, K. and Oku, N.: Cancer anti-angiogenic therapy.
17. Maeda, N., Oku, N. et al.: Synthesis of Angiogenesis-targeted peptides and hydrophobized polyethylene glycol conjugate. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 1015-1017 (2004)
18. Ichikawa, K., Oku, N. et al.: PEGylation of liposome decrease the susceptibility of liposomal drug in cancer photodynamic therapy. *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 443-444 (2004)
19. Kawaguchi T. Liver metastatic cancer cells express atypical MUC1 with Vicia villosa agglutinin-binding carbohydrate(s). *Proc. American Assoc. Cancer Res.* 45: 398, 2004.
20. Kawaguchi T. Cancer metastasis: characterization and identification of the behavior of metastatic cancer cells and the cell adhesion molecules, including carbohydrates. *Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorder* 5: 39-64, 2005.
21. Kawaguchi T. Lack of polymorphism in MUC1 tandem repeats in cancer cells is related to breast cancer progression in Japanese women. *Breast Cancer Research & Treatment*, in press.

