

日中韓フォーサイト事業 平成 22 年度 実施報告書

1. 拠点機関

日本側拠点機関：	九州大学
中国側拠点機関：	中国科学院長春応用化学研究所
韓国側拠点機関：	韓国科学技術院

2. 研究交流課題名

(和文)： 新しい細胞特異的非ウイルス型遺伝子キャリアシステム
(交流分野： バイオテクノロジー)

(英文)： Novel cell-specific and pH-sensitive non-viral gene carrier system
(交流分野： Biotechnology)

研究交流課題に係るホームページ：

[http:// www.cm.kyushu-u.ac.jp/wmaruyama/a3foresight/home.html](http://www.cm.kyushu-u.ac.jp/wmaruyama/a3foresight/home.html)

3. 開始年度

平成 18 年度 (5 年目)

4. 実施体制

日本側実施組織

拠点機関：九州大学

実施組織代表者 (所属部局・職・氏名)：先導物質化学研究所・教授・丸山厚

研究代表者 (所属部局・職・氏名)：先導物質化学研究所・教授・丸山厚

協力機関：東京医科歯科大学、北陸先端科学技術大学院大学、大阪市立大学、北九州市立大学、近畿大学、東京工業大学

事務組織：九州大学筑紫地区事務部

相手国側実施組織 (拠点機関名・協力機関名は、和英併記願います。)

(1) 中国側実施組織：

拠点機関：(英文) Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences

(和文) 中国科学院長春応用化学研究所

研究代表者 (所属部局・職・氏名)：(英文) Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Professor Chen, Xuesi

協力機関：(英文) Institute of Microbiology Epidemiology, Chinese Academy of Military Medical Sciences

(和文) 軍事医学科学院微生物流行病学研究所

(2) 韓国側実施組織：

拠点機関：(英文) Korea Advanced Institute of Science and Technology

(和文) 韓国科学技術院

研究代表者(所属部局・職・氏名)：(英文) Department of Biological Sciences, Professor Park, Tae Gwan

協力機関：(英文) Hanyang University、Chungnam National University、Kangwon National University、Korea University、Pohang University of Science and Technology、Seoul National University、Sungkyunkwan University、Sookmyung Womens University

(和文) ハニュアン大学、チュンナム大学、カンウォン大学、コリア大学、ポハン工科大学、ソウル大学、サンギョンカン大学、スミョン女子大学

5. 全期間を通じた研究交流目標

バイオテクノロジー産業において、現状では米国が支配的状況である。これまで、日本中心にアジア諸国でも基礎生物学領域には多くの資金と人材が投入されたが、一部を除いて欧米研究の後追い型が大方である。バイオテクノロジー分野で欧米諸国と対等なレベルになるには、バイオテクノロジー研究に新たなパラダイム変換を起こしうる要素技術の開発体制を強化することが不可欠である。非ウイルス型の遺伝子ベクター(キャリア)は、安全で低コストな遺伝子治療に欠かせない基盤技術である。これまで十年以上に渡って非ウイルス型遺伝子ベクターの研究が、欧米、日本を含め各国で進められてきたが、現在に至って臨床上意味のある効率と安全性を兼ね備えた非ウイルス型ベクターは実現していない。一方、日本において核酸化学、ドラッグデリバリー材料、高分子分子集合体化学が発展してきた。また、韓国では、遺伝子治療を目的とする核酸コンジュゲートと刺激応答性材料に関する研究が近年活発化している。さらに、中国では機能性高分子合成、生分解性高分子と生命科学分野に昨今めざましい発展を遂げている。非ウイルス型遺伝子ベクターの開発には、医、薬、工の連携が不可欠である。本研究交流では、すでに各国レベルで医・工・薬から構成される研究拠点を形成している研究グループを集約し、3国間交流を深め、最新知見を提供・共有することで、非ウイルス型ベクターを欧米諸国に先駆けて実現する上で不可欠となる材料の設計手法を構築する。

これまでの3年間において、タンパク発現を目的としたプラスミドDNAの送達ととりわけ昨今医療への応用が注目されている核酸医薬(siRNA、アンチセンス、核酸アプタマー)送達に関して、各国で独自性の高い成果が見いだされてきた。一方で、医療へ実際的に応用可能なキャリアの開発にはより高い送達効率と生体適合性の向上が求められる。そこで、これまでの成果を俯瞰し、これらを解決する主要かつ共通な課題として、体内動態のみな

らず、細胞取り込み後の細胞内動態をも制御可能なキャリアの設計手法が求められると3国間で意見が一致し、とりわけ後期2年では上記課題に取り組む。これまでに三国間の情報交換と交流から既に萌芽的成果が得られつつある。たとえば、細胞膜融合性 pH 応答性ペプチドの構造・機能制御とキャリアシステムへの応用、金ナノ粒子等を利用した光シグナル応答型放出制御、および疎水化ナノ会合体を利用した細胞内タンパク質デリバリー等が進展している。また、細胞内デリバリーを目的とした pH 応答性高分子材料の設計に進展がある。これらには、日本の分子集合体化学や材料化学、韓国の製剤学、薬剤動態学、中国の高分子合成化学の知見が活かされている。今後、3国間連携を強化しさらに萌芽的成果を領域横断的な観点から俯瞰し、高効率な遺伝子キャリアの設計・合成手法の確立に活用する。特に、日本側は pH 応答性ペプチドの機能を補助する高分子材料の設計、金ナノ粒子のバイオインターフェース構築等を、韓国側ではこれらのデリバリーシステムへの内包、および生体、細胞動態解析を、また中国側では日本とともに pH 応答性ペプチドに代わる pH 応答性高分子の合成を進める。

材料科学を基盤とし、バイオテクノロジー材料の研究開発に必要となる生物学、医学、薬学、バイオテクノロジーの知見と研究手法を身につけた人材を育成も本課題の目的にしているが、これまでにセミナー等の機会を通じて若手研究者、学生が概ね順調に育ちつつある。今後、これらの人材を将来的にこの領域を担う研究者として、さらには国際的リーダーとして成長させるために、国際学会や国際誌への発表や国際共同研究を支援しつつ、かつ国際的な評価を受ける機会を持たせる。

6. 平成22年度研究交流目標

「研究協力体制の構築」

本年度は中国の拠点機関である長春応用化学研究所で初めて学術セミナーを実施する。日本や韓国の多くの参加研究者が同研究所を訪問することで中国側の実施体制を詳細に把握し、より実地的な協力体制を構築することを念頭に置く。また同時期に同研究所から研究者二人を招聘し共同実験を実施する。これにより、日本側、中国側と共同実験のためのより連携だった協力体制が構築できる。

「学術的観点」

昨年度、中国側研究者を招聘して実施した共同研究の成果をまとめ国際誌に発表した成果をふまえ、より細胞内動態を制御するシステムをキャリア内に内包させることを目指す。具体的には細胞内動態を制御する手法として pH などの細胞内環境に応答して物性を変化させる高分子材料が注目されていることから、これらの高分子材料を内包させたキャリアの開発を目指す。とりわけ、昨年度進展があった α -アミノ酸置換型高分子の機能評価を進めるとともに、様々な α -アミノ酸置換型高分子を合成し、その pH 応答性と遺伝子キャリアとしての評価を進める。

「若手研究者養成」

本年度は2回目となる若手交流セミナーを韓国で実施する。第一回は日本で開催した

が、普段はなかなか発言する機会が得られない若手研究者や大学院生も、若者だけの会議にすることで大変活動的となり、相互の研究成果の評価や共同研究の新たな展開を進めるに当たって非常に有意義かつ好評であった。今回の開催地は韓国であるが、特に日本の若手にとって海外でこのような機会を得られることはより一層の刺激となることが期待される。特に韓国側は、細胞内動態観察や *in vivo* 実験など薬学的評価に秀でた研究者が多く、実際に実験で手を動かしている若手研究者が親密に交流する場を設けることで、日本若手研究者も遺伝子キャリアの評価に欠かせない有用な知識や手腕を身につけると期待される。さらに、この機会を経て、自ら英語で原稿を作成し、発表できる若手研究者を養成することを目指す。

7. 平成22年度研究交流成果

7-1 研究協力体制の構築状況

中国の拠点機関である長春応用化学研究所で初めて学術セミナーを実施した。中国側の本拠地に日本や韓国の参加研究者が訪問し、セミナーを実施し、親睦を深めあえたことで今後の共同研究の具体化、若手研究者同士交流の点で大きな意義があった。本プロジェクトを通じて二回目となる若手研究者交流は韓国で実施された。他国での若手同士の交流により、一層の積極的な3カ国連携への参加意識が芽生えたように見受けられた。中国から研究者二人を招聘して共同実験を実施した。三ヶ月に渡る共同実験により実験条件、プロトコルの共有ができた。また既知の仲として今後も忌憚の無い意見交換が図られると考えられた。

7-2 学術面の成果

肝実質細胞特異的に取り込まれるタンパク質であるアジアロ糖タンパク質と DNA とのコンジュゲート材料を、核酸医薬の一つであるペプチド核酸のキャリアとして設計し、合成を行った。このコンジュゲート材料は血清中では PNA と安定な複合体を形成し、かつ標的核酸である RNA の存在により、PNA をリリースし核酸医薬として機能させることがわかった。また、肝実質細胞に特異的に取り込まれることも見いだされた。この成果は学術論文として発表した。また、生体内での安定化と細胞毒性の低減を目的にポリカチオン・遺伝子複合体をヒアルロン酸等の多糖で被覆した複合体の細胞取り込み活性を増強するために、RGD ペプチドをコンジュゲート化したヒアルロン酸を調製した。調製された複合体は RGD に対する受容体を発現する細胞に対して高い結合活性を有していた。さらに、ポリエチレンジアミン(PEI)を被覆した金ナノ粒子をカテコール・PEI コンジュゲートを用いて調整した。調製した粒子は siRNA と安定な複合体を形成し、がん細胞に対して効果的な遺伝子発現抑制効果を示した。また、PEI 被覆粒子は、細胞毒性も低減されていることがわかった。

7-3 若手研究者養成

本事業を通じて二回目となる若手交流セミナーを韓国で実施した。平成19年に日本で開

催した一回目も、若手研究者の積極性の育成や交流機会の提供といった点で非常に有効であったが、今回は韓国訪問となったためさらに積極的な3カ国連携への参加意識が芽生えたように日本の若手研究者に見受けられた。

7-4 社会貢献

研究成果を Journal of Control Release に発表した他、遺伝子・デリバリー研究会、DDS 学会、バイオマテリアル学会、高分子学会で発表し、広く社会に公表した。また、本研究の成果をとりまとめかつ波及するために、国際学術雑誌に特集号を編纂する準備を行った。

7-5 今後の課題・問題点

最終年度に向けた学術成果の取りまとめと拠点機関形成に繋がる継続的協力体制の構築が今後の課題となる。

7-6 本研究交流事業により発表された論文

平成22年度論文総数 39 本
うち、相手国参加研究者との共著 3 本
うち、本事業が JSPS の出資によることが明記されているもの 5 本

8. 平成22年度研究交流実績概要

8-1 共同研究

中国長春応用化学研究所から研究者を招聘し、 γ グルタメートを有する遺伝子デリバリーキャリアの効果を検証した。細胞内取り込みおよびその後の動態を、培養細胞レベルで観察した。さらに siRNA を使ったルシフェラーゼ発現抑制効果を実際に確認した。

8-2 セミナー

6月に長春にて第9回学術セミナーを実施した。miRNA と発癌機構などの最新の知見の情報交換ができた他に、中国側の拠点機関で実施したことで今後の三か国連携に繋がる相互理解が深まった。また7月には韓国で第2回となる若手交流セミナーを実施した。日本側参加者は全員大学院生となったが、中国、韓国の学生、若手研究者の英語による国際コミュニケーションやプレゼンテーションスキルの高さに接し、良い刺激となった。また若手同士のコミュニケーションが図れ、将来の連携に繋がるものと考えられた。

8-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

研究代表者である丸山教授が、11月10日から12日に横浜はまぎんホールで開催された「第37回国際核酸化学シンポジウム (ISNAC2010)」に参加し座長を務め、本研究課題である「新しい細胞特異的非ウイルス型遺伝子キャリアシステム」に関する「Ultrafast

Detection of DNA mutations by FRET-PHFA Assisted by Cationic Comb-type Copolymers」
というタイトルで発表を行った。さらに国内外の研究者と最新研究の情報交換と論文情報
の収集を行った。

9. 平成22年度研究交流実績人数・人日数

9-1 相手国との交流実績

派遣先		日本	中国	韓国	合計
派遣元		<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>	
日本 <人/人日>	実施計画		15/60	10/40	25/100
	実績		15/61	10/40	25/101
中国 <人/人日>	実施計画	2/180		(10/40)	2/180(10/40)
	実績	4/176		(10/127)	4/176(10/127)
韓国 <人/人日>	実施計画	0/0	(13/52)		0/0(13/52)
	実績	0/0	(12/48)		0/0(12/48)
合計 <人/人日>	実施計画	2/180	15/60(13/52)	10/40(10/40)	27/280(23/92)
	実績	4/176	15/61(12/48)	10/40(10/127)	29/277(22/175)

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流した人数・人日数を記載してください。(なお、記入の仕方の詳細については「記入上の注意」を参考にしてください。)

※日本側予算によらない交流についても、カッコ書きで記入してください。(合計欄は()をのぞいた人・日数としてください。)

9-2 国内での交流実績

実施計画	実績
23/55 <人/人日>	9/30 <人/人日>

10. 平成22年度研究交流実績状況

10-1 共同研究

整理番号	R-1	研究開始年度	2006	研究終了年度	2011
研究課題名	(和文) 新しい細胞特異的非ウイルス型遺伝子キャリアシステム (英文) Novel cell-specific and pH-sensitive non-viral gene carrier system				
日本側代表者 氏名・所属・職	(和文) 丸山 厚・九州大学先導物質化学研究所・教授 (英文) Maruyama, Atsushi・Kyushu University・Professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	<中国側>Chen, Xuesi・Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences・Professor <韓国側>Park, Tae Gwan・Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology・Professor				
交流人数 (※日本側予算によらない交流についても、カッコ書きで記入のこと。)	① 相手国との交流				
	派遣先	日本	中国	韓国	計
	派遣元	<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>
	日本		0/0	0/0	0/0
	実施計画				
	<人/人日>	実績	0/0	0/0	0/0
	中国	2/180		0/0	2/180
	実施計画				
	<人/人日>	実績		0/0(2/95)	4/176(2/95)
	韓国	0/0	0/0		0/0
	実施計画				
	<人/人日>	実績	0/0	0/0	0/0
	合計	2/180	0/0	0/0	2/180
	実施計画				
	<人/人日>	実績	0/0	0/0(2/95)	4/176(2/95)
	② 国内での交流 8/26 人/人日				
22年度の 研究交流活動	中国側研究者二人を3ヶ月間招聘して共同研究を実施した。一方、国内においてはペプチド核酸コンジュゲートおよびナノゲル型キャリアなどに関して研究交流を行った。				
研究交流活動 成果	ポリエチレングリコールをグラフト重合したポリグルタメート誘導体による siRNA のデリバリーを担癌マウスを使用して検証した。その結果、癌デリバリーに有効である事が確認できた。また、国内交流からペプチド核酸コンジュゲートの細胞特異性、核内移行性および、ナノゲル型キャリアの血中滞留性等に関して知見が得られた。				

日本側参加者数	
65 名	(13-1 日本側参加者リストを参照)
中国側参加者数	
33 名	(13-2 中国側参加研究者リストを参照)
韓国側参加者数	
45 名	(13-3 韓国側参加研究者リストを参照)

10-2 セミナー

整理番号	S-1
セミナー名	(和文) 第9回 JSPS A3 フォーサイトプログラム、Changchun セミナー
	(英文) JSPS A3 foresight program, 9th seminar on Changchun
開催時期	平成 22年 6月 20日 ~ 平成 22年 6月 23日(4日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 中国 長春市 長春応用科学研究所
	(英文) China, Changchun, Changchun Institute of Applied Chemistry
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 丸山厚・九州大学先端物質化学研究所・教授
	(英文) Maruyama, Atsushi, Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University, Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外で開催の場合)	Chen, Xuesi, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Professor

参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 (中国)	
	A.	
日本 〈人/人日〉	A.	15/61
	B.	0/0
	C.	0/0
中国 〈人/人日〉	A.	0/0
	B.	0/0
	C.	11/44
韓国 〈人/人日〉	A.	0/0
	B.	0/0
	C.	12/48
合計 〈人/人日〉	A.	15/61
	B.	
	C.	23/92

A. セミナー経費から負担

B. 共同研究・研究者交流から負担

C. 本事業経費から負担しない(参加研究者リストに記載されていない研究者は集計しないでください。)

セミナー開催の目的	<p>各国での進捗状況を持ち合い、相互に情報を共有する。新年度の我々の目標である効率的な細胞内動態制御の実現のため、環境応答性高分子の選択、設計、それらの高分子の細胞内機能を厳密に評価する手法について、これまでの実験結果を中国、韓国側に報告し、意見交換を行う。また、小動物を用いた実証実験に関しては、実験計画の詳細を議論する場ともする。再生医療を念頭に置いた遺伝子デリバリー担体の開発に向けて、専門家を招いて、具体的展開について意見交換する。</p>		
セミナーの成果	<p>研究進捗状況の確認と最新情報の確認を行った。細胞内動態の制御を狙った成果発表がなされた。また miRNA の癌における発現とそれを利用した癌組織における遺伝子発現制御の紹介があった。さらに細胞内環境で分解される架橋剤の報告があった。以上の情報を各国で共有でき研究遂行の参考になった。また、中国側拠点機関の本拠地でセミナーを開催するのは初めてであり、参加研究者に中国側研究施設を視察してもらうことにより、相互の理解が深まった。大学院学生を招聘し、国内、国際の一流の研究者と交流をもってもらった。</p>		
セミナーの運営組織	Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences		
開催経費 分担内容 と金額	日本側	内容 旅費	金額 1,510,566 円
	中国側	内容 セミナー開催経費	金額 3,192,000 円 (250,000 RMB)
	韓国側	内容 旅費	金額 348,233 円

整理番号	S-2
セミナー名	(和文) JSPS A3 フォーサイトプログラム第2回若手交流シンポジウム
	(英文) JSPS A3 foresight program 2nd young scientist exchange symposium in Korea
開催時期	平成 22年 7月 4日 ~ 平成 22年 7月 7日 (4日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 韓国 デジューン市 韓国科学技術院工科大学
	(英文) Korea, Daejeon, Korea Advanced Institute of Science and Technology
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 丸山厚・九州大学先端物質化学研究所・教授
	(英文) Maruyama, Atsushi, Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University, Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外での開催の場合)	Park, Tae Gwan, Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Professor

参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 (韓国)	
	A.	B.
日本 〈人/人日〉	10/40	0/0
	0/0	0/0
	0/0	0/0
中国 〈人/人日〉	0/0	0/0
	0/0	8/32
	0/0	12/48
韓国 〈人/人日〉	0/0	0/0
	0/0	12/48
	10/40	0/0
合計 〈人/人日〉	10/40	0/0
	0/0	20/80
	20/80	

A. セミナー経費から負担

B. 共同研究・研究者交流から負担

C. 本事業経費から負担しない（参加研究者リストに記載されていない研究者は集計しないでください。）

セミナー開催の目的	<p>ポスドク・大学院学生を中心としたセミナーを韓国で実施する。本セミナーでは、ポスドク・大学院生自身が出した生のデータを土台に、使用した実験機器、プロトコールなどについての確認と議論を行う。共同研究を実施し、その結果を議論するためには、実験方法を共有することも重要である。</p>		
セミナーの成果	<p>日本側参加者は全員大学院学生となったが、特に中国、韓国の学生の英語による国際コミュニケーションスキルやプレゼンテーションにスキルの高さに非常に刺激を受けたようである。若手だけで実施してもらった事により、より3カ国の交流も深まったようであり狙い通りであった。研究テーマのディスカッションも一通り実施できたようであり、今後の研究進展にも十分繋がる成果となった。</p>		
セミナーの運営組織	Korea Advanced Institute of Science and Technology		
開催経費 分担内容 と概算額	日本側	内容 旅費	金額 412,160 円
	中国側	内容 旅費	金額 約 638,000 円 (50,000 RMB)
	韓国側	内容 セミナー開催経費	金額 1,175,644 円

10-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

① 相手国との交流

派遣先		日本	中国	韓国	計
派遣元		<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>	<人/人日>
日本 <人/人日>	実施計画		0/0	0/0	0/0
	実績		0/0	0/0	0/0
中国 <人/人日>	実施計画	0/0		0/0	0/0
	実績	0/0		0/0	0/0
韓国 <人/人日>	実施計画	0/0	0/0		0/0
	実績	0/0	0/0		0/0
合計 <人/人日>	実施計画	0/0	0/0	0/0	0/0
	実績	0/0	0/0	0/0	0/0
② 国内での交流		1/4 人/人日			

所属・職名 派遣者名	派遣・受入先 (国・都市・機関)	派遣時期	用務・目的等
九州大学先導物質化学研究所・教授・丸山 厚	「第37回国際核酸化学シンポジウム (ISNAC2010)」 横浜市	H. 22. 11. 9 ～11. 12	「第37回国際核酸化学シンポジウム (ISNAC2010)」にて成果発表、情報交換と収集および研究者交流

1 1. 平成22年度経費使用総額

	経費内訳	金額 (円)	備考
研究交流経費	国内旅費	2,184,905	
	外国旅費	1,787,631	
	謝金	0	
	備品・消耗品購入費	2,885,160	
	その他経費	51,852	
	外国旅費・謝金に係る消費税	90,452	
	計	7,000,000	
委託手数料		700,000	
合 計		7,700,000	

1 2. 四半期毎の経費使用額及び交流実績

	経費使用額 (円)	交流人数<人/人日>
第1四半期	960,000	17/171
第2四半期	2,357,577	14/112
第3四半期	2,311,898	7/24
第4四半期	1,370,525	0/0
計	7,000,000	38/307