

平成31年1月11日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201880296

氏名 柳田 洋翼

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

1. 派遣先: 都市名 ケンブリッジ (国名 アメリカ)
2. 研究課題名(和文) : Cell-mediated drug delivery を応用した脳梗塞治療
3. 派遣期間: 平成30年 6月 9日 ~ 平成30年12月11日 (186日間)
4. 受入機関名・部局名: ハーバード大学 School of Engineering and Applied Sciences
5. 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2ページ程度を目安に記入すること)

世界中で脳梗塞の予後改善を目的とした薬剤の開発が行われてきたが、実用に至った例はない。これは脳への物質の輸送を厳しく制限する血液脳閂門の存在が大きく、脳への薬物送達を妨げる障壁の打破は急務である。免疫細胞は脳梗塞後の幅広い期間、脳へ浸潤し、炎症や障害部の修復に関わっているとされている。そこで血液系細胞に薬剤キャリアを搭載する cell-mediated drug delivery という新たな戦略に注目した。円盤型のマイクロ粒子は食細胞に取り込まれることなく細胞膜表面に修飾することが可能であり、派遣先ではデリバリーツールとしての可能性を見出している。本研究では免疫細胞に円盤型マイクロ粒子、以下 Backpacks-like particles (BPs) に脳保護薬を搭載することにより、これまで難しかった脳への薬物の送達を試みた。

本研究を遂行するにあたり、免疫細胞の中でも虚血後最も早い時期から患部に集積する好中球について検討した。In vitro 実験を行うため、好中球様細胞に分化することが知られている白血病細胞株 HL60 を用いた。HL60 の分化を確認後、BPs の好中球接着部に用いる高分子の検討を行った。スクリーニングの結果、キトサンが HL60 に高い吸着を示すことを明らかとした。次にキトサン/ヒアルロン酸複合体 (CH-HA) を細胞接着部に用い BPs を実際に作製した結果、直径 6  $\mu\text{m}$  の円盤型 PLGA 粒子の作製に成功した。次に分化 HL60 に対する BPs の修飾効率を検討した結果、スクリーニングの結果とは異なりヒアルロン酸/Poly(allylamine) hydrochloride 複合体 (HA-PAH) が最も高い修飾率を示した。最後に脳保護薬として FK506 を含有する BPs の作製に着手した。FK506 含有 BPs は粒子作製時の PLGA 溶液に FK506 を重量比で PLGA の 5% 添加することで作製した。また分化 HL60 へ FK506 含有 HA-PAH BPs を修飾したとき時、細胞に対して急性毒性は認められなかった。

## 6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

派遣先にて手技の習得や基礎的な検討を終えることができたため、残るコンセプト証明の *in vitro* 実験の結果を得ることができ次第、学術学会等で発表する予定である。

今回の派遣では BPs 作製の手技および組成検討とモデル細胞株への BPs の修飾検討を主に行つた。論文化にあたり帰国後も共同研究を継続し、*In vivo* での評価を実施していきたい。これまで細胞株で行っていた実験を初代培養細胞に切り替え、最終的には疾患モデル動物での治療実験を行いたいと考えている。

具体的には、*in vitro* にて BPs の修飾が免疫細胞の遊走能に影響を与えるか、また BPs を保持したまま細胞間隙を通過可能かを Migration assay により評価し、*in vivo* 応用の可能性を検討する。その後 *In vivo* 実験に移行する。初めに DDS 製剤において重要視される体内での量的・空間的・時間的キャリアの分布をを検証することで本研究のコンセプトの実現性を証明する。FITC もしくは放射性同位体 (3H など) で標識した BPs を修飾した免疫細胞をモデル動物に投与することで障害部位選択性的な BPs の集積が認められるかを観察する。また BPs への薬剤内封及び適切な薬物放出に関する検討も視野に入れている。BPs を修飾された免疫細胞に毒性を与えることなく、患部にて薬剤を適切に放出する製剤設計を目指す。当研究室では FK506 の PLGA 粒子よりの放出制御の報告もなされており、それをもとに検討を進めていきたいと考えている。製剤の最適化の曉には脳梗塞モデル動物を用いた治療実験を行う予定である。好中球により十分な薬剤が患部特異的に集積し、至適速度で薬剤を放出することにより高い治療効果が得られることが期待される。また本治療戦略は薬剤キャリアを免疫細胞の膜表面に修飾するという性質上、薬剤が単体より放出されると速やかに脳細胞に作用することも期待される。最終的には実用性の観点より、血中に BPs を投与し標的細胞に修飾する DDS キャリアを開発する。これは世界に先駆けた試みであり本プロジェクトによって得られる知見の有用性は計り知れないと考えている。

## 7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

申請者はこれまで Drug delivery system (DDS) の観点から脳梗塞治療を発展させるべく、研究に励んできた。これまでのリポソーム DDS を主体に研究してきたが、新しい技術を取り入れるべく派遣先で盛んに研究されている Cell-mediated drug delivery を学び、新たな切り口からの脳梗塞治療のプラットフォームの確立を目指した。本プログラムに採用され申請者が最も有意義であったと感じることは、自分でプロジェクトを立案し、実際に海外で研究を行うことができたというこの達成感である。これは今後の研究活動における大きな自信であり、このような機会を賜ることができた本プログラムに深く感謝申し上げる。

研究活動面でも DDS 分野において世界をけん引する研究者たちとともに研究、ディスカッションを行えたことは刺激的な経験であった。派遣先機関は Cell-mediated drug delivery の他にも、経皮デリバリーや経口デリバリーといった投与形態を問わない DDS に関する幅広いテーマについて研究しており、広い視野を持ち非常に精力的に研究活動を展開しているラボであるといえる。海外の研究環境に触ることは、日本の研究環境を客観的にとらえることにつながり、世界に通用する研究者への成長の礎となったと考える。

また日本と米国での大学での研究生活の違いを実際に目の当たりにすることができ、今後の私の研究生活の参考になった。例えば日本は学部生よりプロジェクトを与えられ研究が始まる一方、米国では学業が主で研究は手技を学ぶ程度で本格的に研究に携わるのは学部を卒業後からである点に関しては環境の違いを感じた。

語学面においても自身の成長を感じる。英語のみでのコミュニケーションは自分の思った通りに意思を伝えられずに苦労することもあったが、生活していく中で徐々に慣れていくスムーズに会話できるようになった。また英語の重要性について再認識し、今後も研鑽していきたいと感じた。