

日中韓フォーサイト事業 平成20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>

3. 開始年度

平成 18 年度 (3 年目)

4. 実施体制

日本側実施組織

拠点機関：九州大学

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、鹿児島大学、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。同時に、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な生物学、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する。

6. 平成20年度研究交流目標

昨年度は2回のセミナーの他に若手セミナーを実施し、実験現場に立つ若手研究者、大学院生まで、より広く研究テーマの理解が進んだと思われる。本年度は本事業の後半期に入ることから、より具体的な研究目標設定すると共に、その達成を目指した研究交

流を目的とする。6月には韓国ポハンの POSTECH、12月には中国サンヤ市でセミナーを開催し、進捗状況の報告、研究目標の確認等を行う予定となっている。また、7、8、9月期には中国より研究者を招聘し共同で細胞を使った取り込み、活性評価実験を行い課題研究の推進を計る。また、この研究者招聘を通じ、若手研究者を育成する。また、引き続き若手研究者、大学院生を積極的にセミナー、国際学会等に派遣し成果発表と最新知見の交換の機会を与えることで、研究者としての素養と国際性豊かな人材を養成する。

7. 平成20年度研究交流成果

(交流を通じての相手国からの貢献及び相手国への貢献を含めて下さい。)

7-1 研究協力体制の構築状況

平成20年度は2度のセミナーを実施した。特に11月の Sanya セミナーは参加者が100人を超え、遺伝子キャリア、バイオマテリアル分野の世界トップレベルの研究者と交流を深めることができた。日本側からも国際的評価の高い遺伝子デリバリー研究者を派遣し、中国、韓国側とともに活発な議論最新の情報交換を達成できた。また、7、8、9月には中国長春応用化学研究所から研究者を招聘し、共同での研究を実施した。その結果、双方のニーズ、シーズを具体的に把握することができ、いっそう踏み込んだ議論を通じより効果的な研究計画を組み上げることができた。

7-2 学術面の成果

平成20年7、8、9月に中国応用化学研究所から研究者を招聘し、共同での研究を実施した。当研究室で樹立、確立した恒常発現細胞株により、中国側で合成された生分解性高分子キャリアの遺伝子発現、siRNA 導入活性評価を行った。その結果、ポリ乳酸-カチオン性キャリアが良好な遺伝子導入活性を発現することを確認した。同時に、中国側研究者に、細胞実験手法に関する資材・技術の共有を進めた。

7-3 若手研究者養成

韓国ポハン、および中国サンヤで行われたセミナーに大学院学生を派遣し、ポスター発表を実施した。また、韓国、中国側若手研究者と日本側若手研究者との積極的な交流の場を各セミナー時に設定した。その結果、学術面では相互に刺激を与え合い研究に対するモチベーションを高めることができた。さらに、やや外国人研究者と交流の機会が少なかった日本側学生に関しては、同年代の韓国、中国側学生の国際性の高さを認識する機会となり、より積極的に国際性を向上させる意欲を高揚させる好機になった。

7-4 社会貢献

本プログラムの学術的成果は、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、で発表した。また他に、World Biomaterial Congress,

International Conference on Multi-functional Materials and Structures, Advances In Drug Delivery Systems の各国際会議にて発表した。Mirkin and Niemeyer 編 “Nanobiotechnology II -More Concepts and Application-” WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 出版の和文訳本（監訳：丸山厚、株式会社エヌ・ティー・エス）の出版に参画し、当該分野の意義、重要性の異分野研究者および学生への波及に努めた。

7-5 今後の課題・問題点

日中韓3カ国それぞれ当該分野の一流の研究者を招聘することによって、最新、最先端の情報には十分触れる機会を提供できたと思われる。また、研究者交流の成果も現れ3国間の研究者が円滑に意見交換する機会が頻繁に見受けられる。さらに、本課題を通じ、新たな共同研究の芽も育ちつつある。学術面では各国が各論的に研究を推進すると共に、2国間での共同研究が軌道に乗りつつある。今後、3国間で連携して進めるメリットを活かした学術研究により、効率的な課題の推進が期待されるが、その実施には、3国間の調整に予想以上の時間的制約があり、これらを円滑に進める方法論が課題となる。とりわけ、3国間で予算年度枠が異なり計画を策定するにあたり、大きな制約となっている。これらの解決のために、時間的に十分な余裕をもった実験計画のスケジュール作成とその予算面での裏付けが必要と考える。

7-6 本研究交流事業により発表された論文

平成20年度論文総数 5本

うち、相手国参加研究者との共著 0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 2本

(※ 詳細は別紙「論文リスト」に記入して下さい。)

8. 平成20年度研究交流実績概要

8-1 共同研究

核酸ナノ複合体の調製と細胞取り込み性の評価

これまでに細胞や組織への核酸医薬の効率的な送達をするために、細胞毒性が低くかつ集合特性を制御しうるカチオン性材料の開発を推進し、適切な大きさに治療用遺伝子やsiRNAなどの核酸医薬を集合させるための方法論の確立を計った。そこで中国側が開発したポリ乳酸を基本骨格とする遺伝子キャリアについて、日本側が確立したルシフェリン発現細胞を使用する方法にてその細胞毒性、ジーンサイレンシング活性について評価し、良好な結果を得た。

血中滞留性RNAキャリアとしてのくし型共重合体の評価

遺伝子および核酸医薬は、生体内酵素で分解されやすい点、細胞膜透過性が低い点が大きな問題点となっている。そこで、日本側が開発したPEG鎖を高密度で有するPLLグラフ

ト共重合体、及び韓国側と共同で解析している生体材料であるヒアルロン酸グラフト共重合体の細胞膜透過活性を評価した。蛍光標識法にて評価した結果、各種グラフト率と細胞膜透過性に相関関係があることが明らかとなった。

8-2 セミナー

6月に韓国ポハンの Pohang University of Science and Technology にて「THE 5th A3 (CHINA-JAPAN-KOREA) FORESIGHT MEETING ON GENE THERAPY IN CONJUNCTION WITH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOMATERIALS AND DRUG DELIVERY SYSTEMS」と題したセミナーが行われ、教員11名、大学院生10名にて参加した。日本側からはキーノートスピーチとして九州大学工学研究院の片山佳樹先生から細胞内シグナルによる遺伝子制御について、また北九州大学国際環境工学部の櫻井和朗先生からは抗原提示細胞選択的 CpG リピートの送達によるサイトカイン誘導についてご講演いただいた。熊本大学大学院医学薬学研究部の有馬、京都大学大学院工学研究科の山東は薬学、有機化学の観点からの最新の研究を紹介いただいた。首都大学東京大学院都市環境科学研究科の朝山、北九州市立大学国際環境工学部の望月、九州大学工学研究院の中島、北陸先端科学技術大学院大学の山下らにはポスターでの研究発表の他、セミナーの議事進行を適宜していただいた。また、学生らはポスターでの発表の他、学生のみで行われた交流セミナーに参加した。中国、韓国の学生は積極的に日本側の学生も強く刺激を受けたようであった。丸山、狩野、嶋田はポスター討論の他、韓国、中国と研究進捗状況の報告、研究方針の確認さらに最新情報の交換を行った。また、高分子材料を使ったドラッグデリバリーで世界的に著名なワシントン大学の Allan S. Hoffman 教授を迎え「Enhancing the Efficacy of Intracellular Drug Delivery」と題して薬物の包接に重要な高分子材料設計の基本概念についてご講演いただいた。その他に中国、韓国からもそれぞれ4〜5人ずつ最近の進捗状況について発表してもらい、その評価などの討論を行った。

11月には中国 Sanya 市にて「The 6th China-Japan-Korea Foresight Joint Symposium on Gene Delivery and International Symposium on Biomaterials」と題してセミナーを行った。日本からは教員9人、JSPS 外国人研究員1人、学生9人で参加した。また、日本側 A3 フォーサイトプログラムとは別に中国側が、早稲田大学理工学術院の西出宏之先生を独自に招待しており、交流の機会を得る非常に良い機会となった。日本側はまず研究代表者の丸山が「Highly faithful DNA hybridization produced by an engineered folding pathway and cationic comb-type copolymers」と題して核酸化学と高分子材料について発表した。また Plenary Lecture として北海道大学大学院薬学研究科の原島秀吉先生に「Multifunctional envelope type nano device for non-viral gene delivery Concept and Application for Nanomedicine」と題して独自に開発された多機能性リポソームキャリアについてご講演いただいた。その他東京医科歯科大学生体材料工学研究所の秋吉、九州大学先端物質化学研究所の木戸秋から、研究進捗状況についてご報告いただいた。また、大学院生らと狩野、嶋田、姜、杜はポスター発表にて活発な討論を行った。今

回のセミナーは主に中国側研究代表者の Xuei Chen 先生のご尽力により「International Symposium on Biomaterials」との共催となり、中国から 76 名、韓国から 22 名、アメリカから 3 名、オランダから 2 名、チェコ、ドイツ、ロシア、スウェーデンから各 1 名、西出先生を加え日本から 21 名の総勢 128 名が一同に会する会議となった。なかでも高分子材料による腫瘍集積の研究で、先駆的、かつ大量の報告をされているチェコ Institute of Macromolecular Chemistry の Karel Ulbrich 先生、高分子材料と核酸デリバリーの第一人者の LMU University of Munich、Ernst Wagner 先生、自己組織化ナノパーティクルで著名な University of North Carolina at Chapel Hill の Leaf Huang 先生などの貴重なご講演を聞いただけでなく、親交を温める機会を得、極めて有意義なセミナーを取り持つことができた。

8-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

国内のフォーサイトプログラム主要参加者と研究課題の実施、および共同研究の方向性に付いて話し合いの場を持った。特に、核酸・高分子複合体の機能評価において、医科歯科大学・九大間の共同研究が進展し、論文・学会発表を行っている。8月に中国側拠点機関を訪問する予定であったが、Chen 先生の都合がつかなかったためメールでの打ち合わせを行った。

9. 平成20年度研究交流実績総人数・人日数

9-1 相手国との交流実績

(単位：人／人日)

派遣先 派遣元		日本	中国	韓国	合計
		日本			
日本	実施計画		20/95	23/101	43/196
	実績		18/88	21/83	39/171
中国	実施計画	3/92		(20/80)	3/92
	実績	2/110		(20/40)	2/110
韓国	実施計画	0/0	(10/40)		0/0
	実績	0/0	(23/170)		0/0
合計	実施計画	3/92	20/95	23/101	46/288
	実績	2/110	18/88	21/83	41/281

※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
10/34 (人／人日)	10/30 (人／人日)

10. 平成20年度研究交流実績状況

10-1 共同研究

—研究課題ごとに作成してください。—

整理番号	R-1801	研究開始年度	2006	研究終了年度	2008
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・九州大学先端物質化学研究所・教授 (英文) Maruyama, Atsushi・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 Technolog・Professor				
交流人数 (※日本側予算によらない交流(中国—韓国間の交流)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 (人/人日)	中国 (人/人日)	韓国 (人/人日)	計 (人/人日)
	派遣元				
	日本		0/0	0/0	0/0
			0/0	0/0	0/0
	中国	2/90		0/0	2/90
		2/110		0/0	2/110
	韓国	0/0	0/0		0/0
		0/0	(3/90)		(3/90)
	合計	2/90	0/0	0/0	2/90
		2/110	0/0	0/0	2/110
	② 国内での交流 6人/10人日				
20年度の研究 交流活動及び成 果	生分解性高分子素材を中心に検討を進めるとともに、その細胞への取り込み特性を評価した。 特にこれまで困難とされていた RNA 医薬の血中滞留性を向上させうるキャリアの設計として、カチオン性くし型共重合体を合成し、その血中滞留性を評価した。				
日本側参加者数					
	49 名	14-1 (日本側参加者リストを参照)			
中国側参加者数					
	28 名	14-2 (中国側参加研究者リストを参照)			
韓国側参加者数					
	40 名	14-3 (韓国側参加研究者リストを参照)			

10-2 セミナー

—実施したセミナーごとに作成してください。—

整理番号	S-1		
セミナー名	(和文) JSPS 日中韓フォーサイト事業 Pohang セミナー		
	(英文) JSPS A3 Foresight Program, Seminar on Pohang		
開催時期	平成 20年 6月 11日 ~ 平成 20年 6月 14日(4日間)		
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 韓国 Pohang 市、POSTECH (浦項工科大学)		
	(英文) Korea, Pohang, POSTECH		
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)	Park, Tae Gwan, Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Professor		
参加者数	①日中韓フォーサイト事業の経費を受けて参加した人数・人日数 (その内、共同研究経費により支給したものについては、カッコ内にも記入のこと)		計
	日本側参加者	21/83 (/) 人/人日	21/83
	中国側参加者	0/0 (/) 人/人日	(/)
	韓国側参加者	0/0 (/) 人/人日	人/人日
	②本事業の経費の支給を受けずに参加した人数		計
	日本側参加者	0 人	170 人
	中国側参加者	20 人	
	韓国側参加者	150 人	
	①と②の合計人数		191 人
セミナー開催の目的	研究進捗状況の報告、研究方針の確認さらに最新情報の交換をおこなう。また、高分子構造解析や薬物動態解析に専門的知識を持つ研究者を招聘し、実験法および実験結果の解析法について助言を受ける。さらに、若手発表・討論の機会を設け、若手研究者の育成を計る。		

セミナーの成果	<p>研究進捗状況の確認では、有馬より毒性が低くまた遺伝子発現活性が高いシクロデキストランを一成分とするキャリアの設計、朝山より新しいpH応答性高分子による遺伝子導入などの新たな成果の発表があり、最新知見の交換を行うことができた。また、片山による細胞内シグナルに応答する遺伝子発現制御手法に関する発表は、新たな概念として、中韓を含め研究者や学生に大きな刺激を与えたと考えられる。また、日本側学生は、最新の研究成果をじっくりと聞いただけでなく、ポスター発表、学生交流を通じ韓国、中国の学生と交流を計ることができ、大変刺激になったものと確信される。</p>		
セミナーの運営組織	POSTECH（浦項工科大学）		
開催経費 分担内容 と金額	日本側	内容 旅費	金額 714,170 円
	中国側	内容 旅費	金額 729,000 円
	韓国側	内容 セミナー開催経費	金額 2,857,422 円

整理番号	S-2			
セミナー名	(和文) JSPS 日中韓フォーサイト事業 Sanya セミナー			
	(英文) JSPS A3 Foresight Program, Seminar on Sanya			
開催時期	平成 20 年 11 月 29 日 ~ 平成 20 年 12 月 2 日 (4 日間)			
開催地 (国名、都市名、会場名)	(和文) 中国 Sanyan 市			
	(英文) China, Sanya			
日本側開催責任者 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, 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	①日中韓フォーサイト事業の経費を受けて参加した人数・人日数 (その内、共同研究経費により支給したものについては、カッコ内にも記入のこと)		計	
	日本側参加者	18/88 (/) 人/人日	18/88	
	中国側参加者	0/0 (/) 人/人日	(/)	
	韓国側参加者	0/0 (/) 人/人日	人/人日	
	②本事業の経費の支給を受けずに参加した人数		計	
	日本側参加者	0 人	148 人	
	中国側参加者	76 人		
	韓国側参加者	22 人		
	①と②の合計人数		166 人	
	セミナー開催の目的	本年度の研究進捗状況についての報告を相互に行い、今後の研究方針を議論する。また、非ウイルス系遺伝子キャリアの研究動向についての最新情報の交換をおこなう。		

セミナーの成果	<p>非ウイルス系遺伝子キャリア、及びバイオマテリアルの研究動向と最新成果について研究発表を行った。今回は中国側開催責任者のChen先生の尽力により、A3プロジェクト参加者以外も含め、100名を超える研究者が一同に会し、活発な議論がなされた。幅広い分野の著名な研究者と交流を深めることができ、普段では得ることができない知見にも接することができきわめて有意義であった。特に、再生医療分野における遺伝子キャリアの有用性も強く認識された。一方で、多数の外部研究者の参加により、本プロジェクトの研究成果の外部への発信を促す機会ともなった。</p>		
セミナーの運営組織	Chinese Academy of Sciences		
開催経費 分担内容 と金額	日本側	内容 旅費	金額 2,196,865 円
	中国側	内容 セミナー開催費用	金額 6,561,000 円
	韓国側	内容 旅費	金額 952,474 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

（単位：人／人日）

派遣先 派遣元		日本	中国	韓国	計
		日本		5/35	3/21
	実績		0/0	0/0	0/0
中国	実施計画	1/2			1/2
	実績	0/0			0/0
韓国	実施計画	0/0			0/0
	実績	0/0			0/0
合計	実施計画	1/2	5/35	3/21	9/58
	実績	0/0	0/0	0/0	0/0
② 国内での交流		4人／20人日			

1 1. 平成20年度経費使用総額

(単位 円)

	経費内訳	金額	備考
研究交流経費	国内旅費	1,855,540	
	外国旅費	2,993,110	
	謝金	0	
	備品・消耗品購入費	1,891,695	
	その他経費	110,000	
	外国旅費・謝金に係る消費税	149,655	
	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	760,255	22/84
第2四半期	1,560,940	7/132
第3四半期	2,597,275	21/93
第4四半期	2,081,530	1/2
計	7,000,000	51/311

13. 平成20年度相手国マッチングファンド使用額

相手国名	中国	韓国
平成20年度使用額 (単位：円相当)	12,750,000 円相当	5,079,863 円相当

※ 交流実施期間中に、相手国が本事業のために使用したマッチングファンドの金額を、日本円に換算して記入してください。