

日中韓フォーサイト事業 平成23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 (6 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) Vice President・Kim Sung-Chul

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、サンギョクンカン大学、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3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。例えば、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ointer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23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が主オーガナイザーとなり5月29日から6月2日の予定で中国・桂林市にて10回目となるセミナーをバイオマテリアルに関する国際シンポジウムと併催する。当該セミナーでは本研究課題の成果とりまとめに向けた進捗状況、役割分担を確認する。その一環として、本研究課題で得られた成果を波及するために、薬物送達に関して国際的評価の高い学術雑誌である *Journal of Controlled Release* 誌に特集号を編纂すべく、その内容と準備・進捗状況について議論する。一方、ドラッグデリバリーおよびバイオマテリアル研究者を招聘した国際シンポジウムと併催することで本研究課題の成果の国際的評価を受けるとともに、その成果の世界への発信を行う機会とする。また、セミナーでは本研究終了後の3国間連携の維持に関する方策を検討するとともに、本研究の3国間の連携を3国内の他の研究グループや他国へ広げるための新たなネットワーク形成に関連して国際シンポジウム参加者と議論する。

「学術的観点」

細胞特異性と核移行性が見られたタンパク質・核酸コンジュゲート材料によるペプチ

ド核酸デリバリー、高い遺伝子送達特性を有するアルロン酸被覆遺伝子キャリア、ポリエチレンイミン-金ナノ粒子複合型 siRNA キャリアおよび pH 応答性 α -アミノ酸置換型高分子の核酸送達機能の評価を進め、研究成果をとりまとめる。一方で、昨年度新たに見いだされた膜融合ペプチドの機能賦活化材料について、その遺伝子キャリアへの応用を進める。

「若手研究者養成」

中国桂林にて実施するセミナーに大学院学生や若手研究者を派遣し、世界的に第一線で研究を行っている研究者の講演に直接触れる機会を与える。さらに、自ら携わっている研究の成果を発表させ、研究に対する国際的評価を受ける機会とする。また、3国間の若手間の交流を促す。本研究課題のもと繰り返し交流を行った学生や若手研究者には、国際性が身についてきていることが実感される。これまで同様、実験手法やデータの解析方法に関する知識の交換を促す一方、最終年度でもあり実験結果のとりまとめや論文執筆に関する意見交換を活発化する。

7. 平成23年度研究交流成果

7-1 研究協力体制の構築状況

最終年度を迎えて韓国側コーディネーターが急逝するという不幸かつ不測な出来事があったものの、5、6月に行われた最後の桂林セミナーには韓国からも14名の参加者が有り、活発な意見交換をする事ができた。また、バイオマテリアル分野の国際ジョイントシンポジウムとして行われたこのセミナーには、17人の中国側フォーサイト事業研究者に加えて、一般参加者も113人を数え、本フォーサイトプログラム参加者にとられない交流を構築する事ができた。特にバイオマテリアル分野の国際的リーダーの欧米からの参加もあり、本プロジェクトの成果に対する国際的評価を得る機会となったとともに、その波及にも有用なセミナーとなった。

7-2 学術面の成果

細胞特異性と核移行性が見られたタンパク質・核酸コンジュゲート材料によるペプチド核酸デリバリー、高い遺伝子送達特性を有するヒアルロン酸被覆遺伝子キャリア、ポリエチレンイミン-金ナノ粒子複合型 siRNA キャリアおよび pH 応答性 α -アミノ酸置換型高分子の核酸送達機能の評価を進め、今後の展開について議論を進めた。また、昨年度新たに見いだした膜融合ペプチドの機能賦活化材料について、その遺伝子キャリアへの応用展開を計った。また、カチオン性基の異なるポリカチオンと DNA との相互作用を解析し、アミノ基のメチル化により塩基組成依存的に DNA との相互作用が変化することを見いだした。

さらに最終年度となる本年度は本事業の代表的研究成果を取りまとめた。トムソン・ロイターによる2011年のインパクトファクターが7.2と報告されおり当該分野で国際的に高い評価を得ている Journal of Control Release 誌へ、非ウイルス型遺伝子キャリアを含めた特集号を編纂し、すでに本プロジェクトより原著論文14報の掲載が決定、現在印刷中(Web

公開済み) となっている。5年間の研究を通じ、ガン細胞、肝実質細胞、肝類洞内皮細胞など、細胞レベルでの標的能を有するキャリア動態制御法、また、細胞質内および核内など遺伝子発現、核酸医薬の機能発現に不可欠な細胞内動態を制御する手法も提案された。これらの成果は、非ウイルス型遺伝子キャリアの実現に大きく貢献するものである。

7-3 若手研究者養成

中国桂林にて実施するセミナーに大学院学生を7名、若手研究者を6名派遣し、バイオマテリアル分野において第一線で研究を行っている研究者と交流する機会を設けた。また、自ら携わっている研究の成果を発表させ、研究に対する国際的評価を受けた。これまで同様、実験手法やデータの解析方法に関する知識の交換を促す一方、最終年度でもあり実験結果のとりまとめや論文執筆に関する意見交換が活発になされた。

7-4 社会貢献

この日中韓によるフォーサイト事業の成果を Journal of Control Release 誌にて特集号を編纂し、広く社会にした。

7-5 今後の課題・問題点

本事業は終了したが、継続してこの分野の発展を日中韓共同でいかに実施するかが当面の課題となる。本プロジェクトによる構築された体制を継続し、また得られた知見を広く波及し、また育成された人材の広範な活躍を促すために、非ウイルス型遺伝子キャリアに限らず再生医療、診断分野でのバイオマテリアルにもテーマを広げた連携を構築することを3国間で同意している。具体的には、バイオマテリアルに関する国際会議の開催を企画する。まずは、来年中国で開催される国際バイオマテリアル会議において直近の成果発表をすることを申し合わせている。また、中国長春応用化学研究所主催の非ウイルス型遺伝子キャリアに加え再生医療およびDDSに用いるバイオマテリアルに関するミーティングを再来年に企画中である。

7-6 本研究交流事業により発表された論文

平成23年度論文総数	8本
本事業名が明記されている論文	7本
相手国参加研究者との共著	3本

8. 平成23年度研究交流実績概要

8-1 共同研究

ポリエチレンイミン-金ナノ粒子複合型 siRNA キャリア、タンパク質・核酸コンジュゲートによる細胞特異的核内デリバリ、ヒアルロン酸被覆ポリエチレンイミン誘導体による遺伝子導入の3件の3国間共同研究の成果を Journal of Controlled Release 誌に投稿し、

掲載が決定した。タンパク質・核酸コンジュゲート材料については今後の課題、展開を踏まえ、細胞内動態を解析するための実験方法についての検討を首都大学東京の朝山、東京工業大学の伊勢らと進めた。ヒアルロン酸被覆遺伝子キャリアについては体内動態、細胞取り込みを検証するための蛍光標識を関西大学の矢野らと実施した。また pH 応答性 α -アミノ酸置換型高分子はことなる主鎖骨格でも検証を進め、 α -アミノ酸の遺伝子発現に置ける重要性を確認した。

8-2 セミナー

最後のセミナーにあたり、世界的に著名な研究者を招聘し、当該分野の潮流について講演を依頼し、かつ本事業の成果とその世界的な位置づけについて論評を頂いた。参加者のうち、秋吉、二木、新留、狩野は、これまでの研究の成果を発表した。丸山は研究成果の発表とともに本プロジェクトの意義と成果について総括も行った。朝山、東、櫻井、望月、佐々木、片山、嶋田、森山は、ポスター発表の他、既知の研究者らと研究成果のディスカッションを行った。李、尊田、山口、谷脇、宋、廣濱、和田はポスター発表と、若手交流を行った。

8-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

本年度は実施していない。

9. 平成23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		20/100	0/0	20/100
	実績		21/104	0/0	21/104
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(20/100)		0/0(20/100)
	実績	0/0	0/0(14/70)		0/0(14/70)
合計 <人/人日>	実施計画	0/0	20/100(20/100)	0/0	20/100(20/100)
	実績	0/0	21/104(14/70)	0/0	21/104(14/70)

※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
5/12 <人/人日>	16/49 <人/人日>

10. 平成23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>Kim Sung-Chul・Korea Advanced Institute of Science and Technology・Vice President																																																									
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 <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2">派遣先</th> <th>日本</th> <th>中国</th> <th>韓国</th> <th>計</th> </tr> <tr> <th colspan="2">派遣元</th> <th><人/人日></th> <th><人/人日></th> <th><人/人日></th> <th><人/人日></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">日本 <人/人日></td> <td>実施計画</td> <td rowspan="2"></td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td>実績</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">中国 <人/人日></td> <td>実施計画</td> <td>0/0</td> <td rowspan="2"></td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td>実績</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">韓国 <人/人日></td> <td>実施計画</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td rowspan="2"></td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td>実績</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">合計 <人/人日></td> <td>実施計画</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> <tr> <td>実績</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> <td>0/0</td> </tr> </tbody> </table>					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
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 16 人/49 人日																																																									
23年度の研究交流活動	タンパク質・核酸コンジュゲート材料、ヒアルロン酸被覆遺伝子キャリア、ポリエチレンイミン-金ナノ粒子複合型 siRNA キャリアおよび pH 応答性 α-アミノ酸置換型高分子に绞り込み、核酸複合体の構造評価や遺伝子・核酸医薬送達機能について in vitro、in vivo 評価を実施した。これらのキャリアの細胞内動態は共焦点顕微鏡を用い解析した。丸山は首都大学東京の朝山先生を訪問し、pH 応答性遺伝子キャリアのプロトン化度と DNA 複合化特性および対血清安定性の向上に関して打ち合わせと資料の提供を受けた。また、丸山、狩野、嶋田は6月に東京工業大学の赤池研究室にて DNA タンパク質コンジュゲートによるペプチド核酸医薬の送達能を再試し、論文執筆のための打ち合わせ、情報収集を行った。																																																									

研究交流活動 成果	<p>タンパク質・核酸コンジュゲート材料、pH 応答性α-アミノ酸置換型高分子及びヒアルロン酸被覆遺伝子キャリア/核酸複合体の送達機能の解析を進めた。その結果、タンパク質・核酸コンジュゲート材料では自発的に細胞核に集積するという興味深い現象を見いだした。この研究成果は Journal of Controlled Research の電子版にてすでに公開されている。丸山は首都大学東京の朝山先生と pH 応答性遺伝子キャリアのプロトン化度と DNA 複合化特性および対血清安定性の向上に関して打ち合わせと資料の提供を受け、α-アミノ酸置換型高分子においては弱塩基性、強塩基性の二種類のアミノ基が細胞への遺伝子送達に重要である事を骨格の違う高分子を使って確認した。</p>	
日本側参加者数		
	72 名	(13-1 日本側参加者リストを参照)
中国側参加者数		
	35 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10回 JSPS A3 フォーサイトプログラム、桂林セミナー (英文) JSPS A3 foresight program, 10th seminar on Guilin
開催時期	平成23年 5月 29日 ~ 平成23年 6月 2日 (5日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 中国、桂林、新西街国際大酒店 (英文) China, Guilin, Newwest street hotel
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 ()	
	A.	B.
日本 〈人/人日〉	A.	21/104
	B.	0/0
	C.	0/0
中国 〈人/人日〉	A.	0/0
	B.	0/0
	C.	17/85
韓国 〈人/人日〉	A.	0/0
	B.	0/0
	C.	14/70
合計 〈人/人日〉	A.	21/104
	B.	0/0
	C.	31/155

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	最後のセミナーにあたり、世界的に著名な研究者を招聘し、当該分野の潮流について講演を依頼し、かつ本事業の成果とその世界的な位置づけについて論評を頂く。また、本プロジェクトの成果の世界への発信を行う。		
セミナーの成果	最終年度を迎えて韓国側コーディネーター、Park 先生が亡くなるという極めて不幸な出来事が有ったものの、韓国側メンバーの支援と Park 先生を引き継いだ Kim 先生のご尽力により、無事に予定通りセミナーを開催できた。この分野の著名な研究者も参加され、日中韓フォーサイト事業の総括と今後の展望を議論する事ができた。バイオマテリアル分野の国際的リーダーである米国 Kim 先生、Hoffman 先生、オランダ Feijen 先生などから高い評価を得るとともに、今後も同様な活動の継続を要望された。さらに多くの一般参加者を通じて、成果の波及を果たすことができた。		
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 1,898,890 円
	中国側	内容 セミナー開催費一式、交通費	金額 450,000 RMB (約 5,400,000 円)
	韓国側	内容 旅費	金額 20,162,485 WON (約 1,470,000 円)

10-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

平成23年度は実施していない。

11. 平成23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	918,840	
	外国旅費	2,067,350	
	謝金	0	
	備品・消耗品購入費	1,838,851	
	その他経費	78,586	
	外国旅費・謝金等に 係る消費税	96,373	
	計	5,000,000	
委託手数料		500,000	
合 計		5,500,000	

12. 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	3,748,540	32/140
第2四半期	1,251,460	5/13
第3四半期		
第4四半期		
計	5,000,000	37/153