

(独) 科学技術振興機構
戦略的創造研究推進事業
チーム型研究 (CREST)
追跡評価用資料

研究領域「医療に向けた化学・生物系分子
を利用したバイオ素子・システムの創製」
(2002 - 2007年度)

研究総括 雀部 博之

2013 年 10 月

目次

要旨	1
第 1 章 追跡調査概要.....	4
1.1 研究領域概要.....	4
1.1.1 戦略目標	4
1.1.2 研究領域概要.....	4
1.1.3 研究総括	4
1.1.4 領域アドバイザー.....	5
1.1.5 研究課題および研究代表者.....	5
1.2 研究領域終了後の進展と波及効果.....	8
1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況.....	8
1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果.....	9
第 2 章 追跡調査	13
2.1 追跡調査について.....	13
2.1.1 調査の目的.....	13
2.1.2 調査の対象.....	13
2.1.3 調査の方法.....	13
2.2 アウトプット概要.....	15
2.2.1 研究助成金.....	15
2.2.2 論文	18
2.2.3 特許	21
2.3 アウトカム.....	36
2.3.1 科学技術的アウトカム.....	36
2.3.2 社会・経済的アウトカム.....	37
第 3 章 各研究課題の主な研究成果および波及効果.....	38
3.1 2001 年度採択課題	38
3.1.1 健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパー抗体酵素」の創製(宇田泰三).....	38
3.1.2 巨大ポルフィリンアレーのメゾスコピック構造デバイス(大須賀篤弘).....	42
3.1.3 新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製(岡野光夫).....	46
3.1.4 生体分子間相互作用を連続的に検出するための多機能型水晶発振子マルチセンサの設計と開発(岡畑恵雄).....	50
3.1.5 遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製(片岡一則).....	53
3.1.6 ナノクラスターポリ酸を用いた分子機械の構築(山瀬利博).....	57
3.2 2002 年度採択課題	60
3.2.1 ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発(明石満).....	60
3.2.2 ナノ生物物理化学アーキテクチャの構築と応用(北森武彦).....	65

3.2.3 ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測(鈴木孝治).....	69
3.2.4 ゲノム制御・検出能をもつ革新的人工核酸の創製(関根光雄).....	72
3.2.5 疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析(松岡英明).....	76
3.3 2003 年度採択課題.....	79
3.3.1 細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製(片山佳樹)..	79
3.4 2004 年度採択課題.....	82
3.4.1 低分解能生体超分子像からの原子構造構築技法(由良敬).....	82
第 4 章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況.....	84
4.1 研究領域からの研究成果事例.....	84
4.1.1 新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製(岡野光夫).....	84
4.1.2 遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製(片岡一則).....	90
4.2 まとめ.....	96

要旨

本資料は、戦略的創造研究推進事業のチーム型研究 CREST 研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」(2001-2007 年)において、研究終了後一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、独立行政法人科学技術振興機構(JST)事業及び事業運営の改善等に資するために、追跡調査を実施した結果をまとめたものである。

報告書の構成と調査項目

第1章は追跡調査概要として、本研究領域の戦略目標、研究領域概要、研究領域終了後の進展と波及状況などについて、第2章は追跡調査として、調査の対象、方法など、論文、特許などのアウトプット、科学技術的、社会・経済的アウトカムについて、第3章は各研究課題の主な研究成果および波及効果について記載した。また、第4章には注目すべき成果展開が認められる2つの研究課題についての追加調査を行い、科学技術イノベーションに資する研究成果の状況を記載した。

本研究領域の構成

本研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」は、医療への応用を目指したナノスケールでの生体反応・情報制御技術とバイオ素子・システムの創製、化学・生物系ナノ構造体に係わる研究を対象とする。13 課題を大別すると (A) 新規なナノデバイスや構造体素子、センサー、超微量分析技術など、高度な診断技術の創製に繋がる研究 (B) 移植用培養細胞シート、ナノ DDS、ワクチン、抗体酵素など、治療技術の高度化に繋がる研究 に分けられる。

調査項目として、本研究領域終了後から追跡調査時点までについて、各研究課題の個別ごとの研究成果や活動状況などを記載するとともに、研究代表者を主体に研究助成金、論文、特許、受賞などのデータを調査した。また、主要論文4報を抽出した。

各研究者の本研究領域終了後の研究成果や研究活動を調査したところでは、各研究課題とも本研究領域で得られた成果をさらに発展させ、実用化へのステップを進めていることがわかる。

研究成果の要約

(A) 診断技術の高度化に繋がる研究

- ・ ポルフィリン構造体、ナノクラスターポリ酸分子の優れた機能が研究され、新たな構造デバイスの素材となりうる。
- ・ 世界最高レベルの光学特性を示す新規な高輝度蛍光色素が合成され、診断イメージングへの応用研究が開始された。

- ・ 超微量分析や速度解析では、1分子の重量測定が可能な水晶発振子マイクロバランスを使用して、核酸合成反応や難病タンパクの自己凝集過程を研究している。
- ・ 超微量を扱うフェムトインジェクションは、単一細胞に対する遺伝子注入により遺伝子機能を直接観察でき応用範囲が広い。
- ・ ナノレベルの流路チップデバイスの開発によるウイルスの捕捉、超微量免疫アッセイなども革新的技術といえる。

(B) 治療技術の高度化に繋がる研究

- ・ 細胞シートの研究では、(1) 細胞シートからの立体的な組織の形成と、それを維持するための脈管形成技術の開発、(2) iPS 細胞の大量培養、目的細胞への分化誘導技術の開発、細胞シート作製、(3) 大量供給のための自動化装置の開発、などの大きな科学技術的成果が得られた。皮膚、眼角膜のほか、食道がん上皮、心筋梗塞や心不全などを対象に、内外の医療機関と協力した再生医療のための製品化試験を積極的に進めている。
- ・ DDS 分野において成果の大きな発展がみられた。主要抗がん剤のナノミセル剤についての臨床試験が国内・海外で進行中であり、副作用の軽減と効果の増進が期待される。さらに核酸系化合物のナノミセル剤や抗体をナノミセル剤に結合させることにより、難治性がん、難病などへの遺伝子治療やターゲティング療法が可能となると期待される。
- ・ 生分解性ポリマーのポリ γ -グルタミン酸(γ -PGA)を基剤とする、安全性の高いナノワクチンの臨床応用に向けた検討が進められている。
- ・ 細胞内シグナルタンパクを標的として人工の遺伝子を送達する遺伝子治療の研究；抗体の部分分解によるスーパー抗体酵素の研究； siRNA 試薬など人工核酸の革新的製造方法の研究などは、いずれも新しいコンセプトによる治療・診断方式を目指したものである。

以上、本研究領域が掲げた医工の連携による基礎的・応用的研究から、革新的な医療技術や製品に繋がる基盤技術が開発され、成果の活用へと進んでいる。

調査データの解析

- ・ 研究助成金で大型のものとしては、4名(片岡一則、宇田泰三、明石満、北森武彦)があらたにCRESTプログラムに採択され、2名(岡野光夫、片岡一則)が2009年より最先端研究開発支援プログラム(FIRST)に採択されたのが特筆される。このほか、NEDO、JSTの研究成果展開事業、厚生労働科学研究費などの事例があるほか、殆どの研究代表者が科研費を獲得している。
- ・ 論文発表数としては、領域全体では、期間中が1109報に対して、終了後は1001報であり、期間後も研究活動が活発であることが窺われる。また、論文数の著しく多い研究者が数名(片岡一則、岡野光夫、明石満、大須賀篤弘)あり、研究の発展を示唆している。
- ・ 特許の出願件数としては、本研究領域期間中の全体の国内出願173件、国際出願58件の中で今までに特許として成立した件数はそれぞれ62と45件であった。一方、終了

後の出願件数は、国内出願 95 件、国際出願 37 件であった。本領域は工学研究者が多いことから特許申請への意欲が強く、個別では、5 名の出願数が特に多く、海外出願の割合が高い。

- 外部評価の一つの指標である表彰については、本研究領域終了後で9名に事例がある。中でも 2 名が件数及び受賞内容において顕著であり(片岡一則 8 件、岡野光夫 4 件)、その業績がいかに高く評価されているかを示している。このほか、学会への貢献を含めて学会賞を受けたものが 3 名(大須賀篤弘、関根光雄、北森武彦)あった。

第 1 章 追跡調査概要

1.1 研究領域概要

当領域は、「化学・生物系の新材料等の創製：ナノスケールでの革新的な機能材料、分子機械、バイオ素子、バイオセンサー技術の創製を目指して」として 2001 年度に発足したが、2002 年度の「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」の発足に伴って、「非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製」を戦略目標とする「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」研究領域として改組された。そのため、2001 年度採択の研究課題と 2002 年度以降の採択課題では、戦略目標、研究領域名が異なっている。

(1)「化学・生物系の新材料等の創製：ナノスケールでの革新的な機能材料、分子機械、バイオ素子、バイオセンサー技術の創製を目指して」（2001 年度発足）

この研究領域は、ライフサイエンス、IT、材料等さまざまな分野の基礎となるナノテクノロジーのうち、ナノスケールにおける化学や生物系の新材料、デバイス等の創製に関する研究を対象とする。

(2)「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」（2002 年度改組）

この研究領域は、医療への応用に向け、ナノスケールでの生体反応・情報制御技術、バイオ素子・システムの創製、及び、それを用いる化学・生物系ナノ構造体に係わる研究を対象とする。

1.1.1 戦略目標

(1)「ナノスケールにおける融合的革新技術の構築」（2001 年度）

(2)「非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製」（2002 年度以降）

1.1.2 研究領域概要

上記(1)の研究領域においては、化学や生物系機能性新材料の創製、ドラッグデリバリーシステム等に应用可能な分子機械やバイオ素子、バイオセンサー等の設計・組立て、それらの材料やデバイスの自己組織化技術等、将来医療や環境、エレクトロニクス等の多様な分野における革新を促す基盤的技術に係わる研究を行った。

また、(2)の研究領域においては、超高感度に物質濃度や温度・圧力などを測定するバイオ素子・システム等の創製に係わる研究、バイオ素子・システムを診断・治療等の医療に応用する研究やドラッグデリバリーシステム等の研究を行った。

1.1.3 研究総括

相澤 益男((前)東京工業大学 学長、2001 年 6 月～2006 年 12 月)

雀部 博之(千歳科学技術大学 学長、2007 年 2 月～2008 年 3 月)

[所属・役職は本研究領域終了当時]

相澤研究総括は、2007年1月より総合科学技術会議議員に就任したため、2006年12月に研究総括の職を辞した。後任として、当領域の領域アドバイザーであった雀部千歳科学技術大学学長(当時)が、2007年2月より研究総括に就任した。

1.1.4 領域アドバイザー

本研究領域では将来の診断・治療等の医療への応用を目指し、革新的で基盤的なナノ工学技術の開発に向けた展開と研究を進めた。この研究領域のねらいに沿って研究を推進するため、表1-1のように7人の領域アドバイザーにより研究領域運営において研究総括を補佐する体制を講じた。

表 1-1 領域アドバイザー

領域アドバイザー	所属	役職	任期
猪飼 篤	東京工業大学大学院生命理工学研究科	教授	2001年4月 ～2004年3月
岡本 正義	元株式会社東芝環境技術研究所	所長	2001年4月 ～2008年3月
雀部 博之	千歳科学技術大学	学長	2001年4月 ～2007年1月
宍戸 昌彦	岡山大学大学院自然科学研究科	教授	2001年4月 ～2008年3月
土井 正男	東京大学大学院工学系研究科	教授	2004年4月 ～2008年3月
松永 是	東京農工大学	副学長	2001年4月 ～2008年3月
山崎 巖	北海道大学	名誉教授	2001年4月 ～2008年3月

(註)所属と役職は本研究領域終了時点

1.1.5 研究課題および研究代表者

研究課題と研究代表者は表1-2に記すとおりである。

表 1-2 研究課題と研究代表者

採択 年度	研究課題	研究代表者	採択時の所属・ 役職	終了時の所属・ 役職	追跡調査時の 所属・役職
2001 年度	健康・福祉のためのナノ バイオ材料およびバイ オ素子としての「スーパ ー抗体酵素」の創製	宇田 泰三	広島県立大学 生物資源学部 生物資源開発 学科 教授	県立広島大学 生命環境学部 生命科学科教 授	大分大学工学 部応用化学科 客員教授
2001 年度	巨大ポルフィリンアレ ーのメゾスコピック構 造デバイス	大須賀 篤弘	京都大学大学 院理学研究科 教授	京都大学大学 院理学研究科 教授	京都大学大学 院理学研究科 教授
2001 年度	新規組織再構成技術の 開発と次世代バイオセ ンサーの創製	岡野 光夫	東京女子医科 大学先端生命 医科学研究所 教授・所長	東京女子医科 大学先端生命 医科学研究所 教授・所長	東京女子医科 大学先端生命 医科学研究所 教授・所長
2001 年度	生体分子間相互作用を 連続的に検出するた めの多機能型水晶発振 子マルチセンサの設計 と開発	岡畑 恵雄	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科教 授	京都大学大学 院理学研究科 教授	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科生 体分子機能工 学専攻教授
2001 年度	遺伝子ベクターとして 機能するナノ構造デバ イスの創製	片岡 一則	東京大学大学 院工学系研究 科教授	東京大学大学 院工学系研究 科・医学系研究 科教授	東京大学大学 院工学系研究 科 マテリアル 工学専攻教授
2001 年度	ナノクラスターポリ酸 を用いた分子機械の構 築	山瀬 利博	東京工業大学 資源化学研究 所教授	東京工業大学 資源化学研究 所教授	東京工業大学 名誉教授
2002 年度	ナノ粒子を応用した抗 レトロウイルスワクチ ンの開発	明石 満	鹿児島大学大 学院理工学研 究科教	大阪大学大学 院工学研究科 教授	大阪大学 大学 院工学研究科 応用化学専攻 教授
2002 年度	ナノ生物物理化学アー キテクチャの構築と 応用	北森 武彦	東京大学大学 院工学系研究 科教授	東京大学大学 院工学系研究 科教授	東京大学 大学 院工学系研究 科バイオエン 지니어リング 専攻 副学長・ 教授
2002 年度	ナノケミカルプローブ の創製とバイオ・医療計 測	鈴木 孝治	慶應義塾大学 理工学部教授	慶應義塾大学 大学院理工学 研究科教	慶應義塾大学 大学院理工学 研究科教

採択 年度	研究課題	研究代表者	採択時の所属・ 役職	終了時の所属・ 役職	追跡調査時の 所属・役職
2002 年度	ゲノム制御・検出能をも つ革新的人工核酸の創 製	関根 光雄	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科教 授	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科教 授	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科教 授
2002 年度	疾患モデル細胞の高効 率創製と機能解析	松岡 英明	東京農工大学 工学部教授	東京農工大学 大学院工学府 生命工学専攻 教授	東京農工大学 大学院工学府 生命工学専攻 教授
2003 年度	細胞対話型分子システ ムを用いる革新的遺伝 子送達概念の創製	片山 佳樹	九州大学大学 院工学研究院 教授	九州大学大学 院工学研究院 教授	九州大学大学 院工学研究院 教授
2004 年度	低分解能生体超分子像 からの原子構造構築技 法	由良 敬	日本原子力研 究所計算科学 技術推進セン ター副主任研 究員	(独)日本原子 力研究開発機 構 システム計 算科学センタ ー 研究副主幹	お茶の水女子 大学生命情報 科学研究セン ター所長

1.2 研究領域終了後の進展と波及効果

1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況

本研究領域の13の研究課題を大別すれば次の2つのグループ(A)、(B)に大別することができる。それらについて、本研究領域終了後の成果の発展状況や活用状況を調査した。その結果、各研究課題とも本研究領域で得られた成果をさらに発展させ、実用化へのステップを進めていることがわかった。

(A) 高度な診断技術の創製に繋がる研究

- ・新規なナノ構造体素子の研究では、大須賀篤弘らのポルフィリン多様体の合成研究が次々と新たな成果を生み出し、世界のトップランナーの位置を維持している。また、山瀬利博らは多種多様なナノクラスターポリ酸を分子設計し、優れた手法により複雑な結晶構造の決定を続けている。
- ・超微量分析では、岡畑恵雄らは、水晶発振子マイクロバランスを使用して、核酸合成反応や難病タンパクの自己凝集過程を研究している。また、北森武彦らが開発したナノレベルの流路チップデバイスも革新的技術であり、2度目のCRESTの支援を受け、ウイルスの捕捉、超微量免疫アッセイなどへの応用が研究されている。
- ・超微細観察では、世界最高レベルの光学特性を示す新規な高輝度蛍光色素が鈴木孝治らによって合成され、生体内がん診断での精密なイメージングへ応用研究が開始された。また、松岡英明らは、フェムトインジェクションを用いて遺伝子機能を直接観察する技術を開発している。

(B) 治療技術の高度化に繋がる研究

- ・岡野光夫らによる細胞シートの作成技術の研究が、FIRSTの大型支援をうけ、再生医療での実用化をめざして急速に発展している。細胞シートの大量供給を可能とする工学技術および自動化技術の開発を、企業の協力を得ながら実施している。また、内外の医療機関と協力した再生医療のための製品化試験を進めている。
- ・片岡一則らによるDDSの研究もFIRSTに選定され大きく発展している。主要抗がん剤のナノミセル剤についての臨床試験が国内・海外で進行中であり、核酸系化合物や抗体との複合剤もターゲティング療法を目指している。また、明石満らは、生分解性ポリマーのポリγ-グルタミン酸を基剤とする、安全性の高いナノワクチンのDDSを開発し、臨床応用を検討している。
- ・片山佳樹らの、細胞内シグナルタンパクを標的として人工の遺伝子を送達する研究、関根光雄らによるsiRNA試薬など人工核酸の革新的製造方法の研究などは、将来の遺伝子治療での応用へ向かって展開されている。宇田泰三らによる抗体の部分分解によるスーパー抗体酵素の研究は、各種病原タンパクの分解をねらった新しいコンセプトによる治療方式を目指して、動物での実証試験に入っている。

1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果

(1) 科学技術の進歩への貢献

本研究領域は、医療への応用に向け、ナノスケールでの生体反応・情報制御技術、バイオ素子・システムの創製、化学・生物系ナノ構造体に係る研究等を対象としている。具体的には以下の(A)、(B)が挙げられる。

- (A) 高感度に濃度や反応などを測定する新規なナノ構造体素子やセンサー、チップ、或いは超微量分析技術など、高度な診断技術などの創製に係わる研究、
- (B) インテリジェントなナノ DDS 構造、抗体酵素、人工核酸、細胞培養シートなど、遺伝子治療、ワクチン、再生医療など、新たな治療技術の創製に係わる研究、である。

(A) 高度な診断技術の創製に係わる研究

①新規なナノ構造体素子

ポルフィリン構造体の合成研究において初めて創製された金属との錯体は、4 量体からなる環状構造を有し、ナノチューブになりうる画期的なものである。光ファイバーなど広い分野でインパクトを与える構造デバイスであり、その科学技術的波及効果は大きい（大須賀）。

ナノクラスターポリ酸分子についても優れた機能が見出され、センサーや分子機械を設計するための新たな構造デバイスとなる（山瀬）。

②超微量分析

水晶発振子マイクロバランス (QCM) を用いる超微量分析や速度解析は、1 分子の重量測定が可能な性能を達成し、核酸合成反応や、プリオン・ β -アミロイドなどの難病タンパクの自己凝集過程について、動的解析を大きく進展させている（岡畑）。

ナノレベルの微細加工により刻まれた流路チップやデバイスの創製は、ウイルスの捕捉装置やアレルギー物質やがん特異的タンパクの超微量イムノアッセイなどの開発を可能とする革新的技術である（北森）。

③超微細観察

世界最高レベルの光学特性を示す新規な高輝度蛍光色素 Keio Fluor は、生体内の複数の成分・濃度を高感度に検出することを可能とし、生体細胞や臓器での蛍光イメージングの描出レベルを飛躍的に向上させている（鈴木）。

フェムトインジェクション技術は、単一細胞に対して単一遺伝子の注入が可能で、遺伝子機能を直接観察できることから、動物細胞や植物細胞などでの応用範囲が広い（松岡）。

(B) 新たな治療技術の創製に係わる研究

①細胞シート

温度応答性培養皿を用いた細胞シートの、再生医療への応用研究と技術開発が急速に進んでいる。(i) 細胞シートからの立体的な組織の形成と、それを維持するための脈管形成技術の開発、(ii) iPS 細胞の大量培養、目的細胞への分化誘導技術の開発、(iii) 大量供給

のための自動化装置の開発、などの大きな科学技術的成果が得られた（岡野）。

②DDS

高分子ミセルを用いるナノ DDS の研究では、(i) 抗がん剤内包ナノミセルの自然発生すい臓がんモデルでの優れた治療効果の確認、作用機構の解明、(ii) 抗体との複合による標的へのターゲティング、(iii) 核酸系化合物の安定化に成功、遺伝子治療のための基盤確立、などの科学技術的成果が得られた（片岡）。

ポリ γ-グルタミン酸を基剤とする、免疫制御能を有する高分子ナノ粒子ワクチンの試作に成功し、DDS の応用範囲が広がっている（明石）。

③遺伝子治療用ツールなど

(i) 細胞内シグナルタンパクを標的として人工の遺伝子を送達する遺伝子治療の研究（片山）、(ii) 抗体の部分分解によるスーパー抗体酵素の研究（宇田）、(iii) siRNA 試薬など人工核酸の革新的製造方法の研究（関根）などは、いずれも新しいコンセプトによる治療・診断方式を目指したもので、内外の学会から注目されている。

以上、本研究領域が掲げた医工連携による創造的アイデアを発揮させた研究により、革新的な医療技術や製品に繋がる基盤技術が開発され、成果の活用へと進んでいる。

原著論文などによる成果の報告は、科学的貢献の重要な手段である。本研究領域終了後も活発な論文投稿が続いている。

(2) 社会・経済的波及効果

①医療への貢献

社会的波及効果としては、本研究領域の目的である医療分野への貢献が挙げられる。ナノテクノロジーを駆使した革新的な技術開発により、疾病の原因の解明が進み、精度・確度の高い技術が導入されて診断方法が飛躍的に向上することが期待できる。また、再生医療、遺伝子治療、ワクチンによる疾病予防など新たな治療法が可能となり、治療技術は大きく進歩することから、患者へのメリットは大きく、その社会的波及効果は極めて大きい。疾病の予防や医療技術の進歩、薬剤使用の効率化などは相対的な保健医療コストの低減につながり、以下に具体的事例を挙げて考察する。

(i) 移植用培養細胞シート

現在の医薬中心の治療法では治せない難治性疾患、障害や老化による機能の劣化などで障害を持った患者の治療が可能となる。例えば(A)細胞シートの貼り付けで改善できるものとしては、上皮系の細胞シートを使用しての角膜、食道、歯根膜、心筋、軟骨、皮膚の修復・再生があり既に実用試験に入っている。今後、これに子宮、膀胱、耳管、肺(気胸)などが加わる。(B)臓器不全に対する代替臓器の装着を想定しているものとしては、肝臓、膵臓、心臓(筋萎縮症)、腎臓などがある。

再生医療を進めるための我国の法整備に大きな前進がみられ、2013 年秋にも法案が成立

する見込みである（2014.11.25 施行）。これにより、細胞シートや代替臓器などの再生医療製品の認可の迅速化がはかれる他、病院間の相互協力による患者への適用、製品の製造の委・受託も可能となる。

(ii) 高分子ミセル DDS

抗がん剤ミセルの開発で大きな進展が見られ、医療への波及効果は大きい。既に臨床試験に入っている抗がん剤の高分子ミセル剤は5品目ある。乳がん、すい臓がん、大腸がん、胃がん、肺がん、頭頸部がんの再発や進行がんなど、難治性となっている症例を対象として治験が実施中である。高分子ミセル剤は徐放性で、副作用が抑制できることは治療上の大きなメリットである。上市までには臨床第3相試験の成績を待たねばならないが、製品化の期待は大きい。

一方、治療の難しい脳腫瘍やがん幹細胞、或いは神経系の遺伝的難病に対しては、標的に対するターゲティングが有効で、薬剤効果の発揮を目指している。一方、核酸医薬を高分子ミセルに内包させ、遺伝子治療に用いる研究も進んでおり、治療法がなかった患者の救済につながる。

②医療産業の活発化

新規な診断装置や治療技術の開発は、医療産業の活性化と拡大をもたらす経済的な波及効果が大きい。上記2アイテム、即ち細胞シートと高分子ミセル DDS は、画期的な技術によって創製され、企業による事業化が進みつつある。また、基本技術や応用技術に関する国内、海外特許が数多く出願されて強い国際競争力を備えている。今まで、医薬品や医療機器の分野で輸入超過となっていたバランスの改善につながると考えられる。

③社会的注目度

社会的パブリシティの観点から考察すると、研究成果や研究活動が新聞やメディアの報道として伝えられ社会的関心を惹くことは、その課題への注目度を測ることになり社会的波及効果に繋がる。その意味で培養細胞シートとその量産化、医学的応用(岡野光夫)に関する報道が52件あり再生医療の実現への期待が高いことを示している。DDSによる遺伝子治療と製剤化(片岡一則)に関する報道29件がそれに続いた。

各種の表彰事例もメディアなどの注目するところとなり、成果の社会的発信に繋がる。本研究領域終了後で9名に事例がある。中でも2名が件数及び内容において顕著であり(片岡一則8件、岡野光夫4件)、その業績がいかに高く評価されているかを示している。このほか、学会への貢献を含めて学会賞を受けたものが3名あった。

④知的財産権の確保

一方、研究成果を特許出願することによって知的財産として権利化し、産業育成へ貢献するとともに国際競争力で優位に立つことは大きな経済的波及効果をもたらすことになる。本研究領域は工学分野の研究者が多いことから、特許申請への意欲が強く、本研究領域期間中に多くの特許が出願され、終了後もそのペースは続いている。出願件数としては、本研究領域期間中の国内出願は173件、国際出願は58件で、そのうち調査時点までに特許と

して成立した件数はそれぞれ 62 件と 45 件であった。一方、本研究領域終了後の出願件数も、国内出願 95 件、国際出願 37 件にのぼり、海外出願の割合が高い。

第 2 章 追跡調査

2.1 追跡調査について

2.1.1 調査の目的

追跡調査は、本研究領域終了から一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、科学技術振興機構（JST）の事業および事業運営の改善に資するために行うもので、本研究領域終了後の研究代表者の研究課題の発展状況等を、JST から提供された「平成 21 年度戦略的創造研究推進事業(ナノテクバーチャルラボ)に係る成果論文展開調査」結果も含めて調査した。

2.1.2 調査の対象

本追跡調査は CREST 研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」（2001～2007 年度）の研究代表者全員を対象とする。表 2-1 に調査対象と調査対象期間を示す。

表 2-1 調査対象と調査対象期間

採択年度	研究期間	研究終了後調査対象期間	研究課題数
2001 年度	2001 年 12 月～2007 年 3 月	2007 年 4 月～2012 年 9 月	6
2002 年度	2002 年 11 月～2008 年 3 月	2008 年 4 月～2012 年 9 月	5
2003 年度	2003 年 10 月～2008 年 3 月	2008 年 4 月～2012 年 9 月	1
2004 年度	2004 年 10 月～2008 年 3 月	2008 年 4 月～2012 年 9 月	1

2.1.3 調査の方法

(1) 研究助成金

本研究領域終了以降に、研究代表者が代表もしくはそれに相当する立場（総括研究者、プロジェクトリーダー等）で獲得した外部研究資金を調査した。

対象となる外部研究資金と調査方法は以下の通りである。

① 科研費

KAKEN 科学研究費助成事業データベース(<http://kaken.nii.ac.jp/>) から、研究代表者が代表となっている研究課題を検索した。さらに、プロジェクトの規模から継続・発展が図られているかという観点から、大型(1 千万円/年 以上)のものを抽出した。

② JST 研究資金

JST ホームページ(<http://www.jst.go.jp/>)のサイト内検索で研究代表者の情報を検索し、本研究領域終了以降に研究代表者が代表となって採択された事業もしくはプロジェクト(研究総括あるいは領域総括としての関与は含まない)を抽出した。

③NEDO プロジェクト

NEDO ホームページ(<http://www.nedo.go.jp/>) のサイト内検索、および成果報告書データベース(<https://app5.infoc.nedo.go.jp/disclosure/Login> 利用には ID とパスワードが必要) から、研究代表者の情報を検索し、本研究領域終了以降に代表者、もしくはプロジェクトリーダー等として実施しているプロジェクトの有無を確認した。

④最先端・次世代研究開発支援プログラム

最先端研究開発支援プログラム (FIRST) のホームページ(<http://first-pg.jp/about-us/about-30.html>)¹⁾および最先端・次世代研究開発支援プログラムのホームページ(<http://www.jsps.go.jp/j-jisedai/life.html>)から、研究代表者の採択実績を確認した。

⑤その他

本研究領域においては、医学分野への応用も想定されることから、厚生労働科学研究成果データベース(<http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIST00.do>)から、厚生労働科学研究費の獲得実績についても確認した。

(2) 論文

本研究領域期間中および終了以降の研究代表者の発表論文について、Scopus (Elsevier) の名寄せ機能を用いて検索を行った。

本研究領域終了以降の論文のうち、著者名だけでは研究代表者の論文と特定できない場合には、抄録を確認し、所属機関の情報や内容から絞り込みを行った。

次に、本研究領域期間中および本研究領域終了以降の論文数を求めた。本研究領域終了以降の論文については Article と Review に絞り込み、さらに研究代表者が筆頭著者(1st Author) もしくは責任著者(Last Author) となっている論文(以下「責任著者論文」)の数を求めた。

(3) 特許

本研究領域期間中の出願特許の成立および海外出願の状況と、本研究領域終了以降の国内・海外出願特許について調査した。国内特許の出願・成立状況の検索・確認には、国内特許公報 ATMS を、海外(国際)出願・成立状況の検索・確認には、欧州特許庁の esp@cenet を用いた。

本研究領域期間中の特許出願については、まず国内出願特許の成立状況を国内特許公報 ATMS で確認した。次に、その出願を優先権とする国内・海外(国際)出願と成立状況を esp@cenet で確認した。

本研究領域終了以降の特許出願については、研究代表者が発明者に含まれる国内出願特許を検索し、成立状況を確認した。海外(国際)出願と成立状況については、本研究領域期間中出願特許の確認方法に準じ、esp@cenet を用いて行った。

2.2 アウトプット概要

2.2.1 研究助成金

研究者の研究助成金の獲得ならびに獲得金額は、研究者が外部からどの程度評価され、研究を発展させているかの一つの証左であることから、各研究者の本研究領域終了後の研究助成金獲得状況について調査し、表 2-2 に示した。

片岡、宇田、明石、北森がそれぞれ新たに CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括堀池靖浩)(2006 年～2013 年)研究課題「遺伝子治療実用化のための超分子なのでバイス製造技術の創成」(片岡)、CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括堀池靖浩)(2006 年～2013 年)研究課題「高機能分子「スーパー抗体酵素の自動合成装置と大量合成」(宇田)、CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括堀池靖浩)(2006 年～2013 年)研究課題「免疫抑制脳を有する高分子ナノ粒子ワクチンの製造」(明石)、を発展・継続的に展開している。また、宇田の本研究領域研究から新たにさきがけ研究領域「構想機能と計測分析」(寺部茂研究総括)(2004 年～2009 年)研究課題「インフルエンザウイルスを計測・除去可能なスーパー抗体酵素」(一二三恵美)が派生した。

この他、比較的大型の研究助成金を獲得しているものとして、岡野と片岡が 2009 年より FIRST に選定されたのが特筆されるほか、岡野の NEDO、岡畑の JST の研究成果展開事業、片岡と松岡の厚生労働科学研究費補助金の採択などが挙げられる。

また、殆どの研究代表者が本研究領域終了後、科研費を獲得しているが、中でも大須賀、片岡、明石、北森、鈴木、関根、片山らが比較的多くの助成金を受けている。

表 2-2 研究代表者の研究助成金獲得状況

■ : 科研費 ■ : JST ■ : NEDO ■ : その他

採択年度	研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	年度												金額 (百万円)
						00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	
2001	宇田 泰三	JST CREST「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」	高機能分子「スーパー抗体酵素」の自動合成装置と大量合成	2007	2012	研究期間中						研究終了後						
2001	大須賀 篤弘	科研費 基盤研究(A)	ホルフィリンに基づく新規なπ電子系の開拓	2007	2009	研究期間中						研究終了後						45.5
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	新規共役ホルフィリノイドの開発とその集積化による高次π空間の構築	2008	2012													88.9
		科研費 基盤研究(A)	メビウス芳香族性の研究—分子開拓と機能化	2010	2012													45.8
2001	岡野 光夫	科研費 基盤研究(B)	機能化温度応答性ナノ表面の創製とタンパク質・細胞の接着制御に関する基礎研究	2008	2010	研究期間中						研究終了後						18.9
		最先端研究開発支援プログラム	再生医療産業化に向けたシステムインテグレーション—臓器ファクトリーの創生—	2009	2013													3384.0
		NEDO 次世代機能代替技術の研究開発		2010	2015													
2001	岡畑 恵雄	科研費 基盤研究(A)	光電変換機能を持つDNAフィルム	2006	2008	研究期間中						研究終了後						52.0
		JST 研究成果展開事業 先端計測技術・機器開発プログラム	生体内反応の定量化をめざしたオプトQCM装置の開発	2008	2010													
		科研費 基盤研究(S)	転写・翻訳反応のQCM法による時空間的解析	2010	2014													119.3
2001	片岡 一則	科学技術振興調整費 新興分野人材養成 大学院修士課程相当のレベルの実務者・研究者の養成	医療ナノテクノロジー人材養成ユニット	2004	2008	研究期間中						研究終了後						
		科研費 基盤研究(A)	細胞内ミクロ環境応答型高分子ミセル型ナノデバイスの創製とがん標的治療への展開	2005	2007													47.2
		科学技術振興調整費 産学官共同研究の効果的な推進	ナノミセル型siRNA送達システムの開発	2005	2007													
		科研費 特定領域研究	高分子ミセル型ナノキャリアによる薬物・遺伝子デリバリー	2005	2009													46.2
		JST CREST「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」	遺伝子治療実用化のための超分子ナノデバイス製造	2006	2011													
		科研費 基盤研究(A)	全身投与によるsiRNAデリバリーを実現するためのマルチ機能化高分子ミセルの創製	2008	2010													50.6
		厚生労働科研費 厚生科学基盤研究分野 医療機器開発推進研究(低侵襲・非侵襲医療機器(ナノテクノロジー)研究)	血管内腔からがん組織への高効率・特異的移行を実現する革新的DDSの創成と脳腫瘍標的治療への展開	2008	2010													89.3
		最先端研究開発支援プログラム	ナノバイオテクノロジーが先導する診断・治療イノベーション	2009	2013													3415.0
科研費 基盤研究(B)	siRNAをビルディングブロックとする超分子構造体の創出と機能開発	2011	2013													14.6		
2001	山瀬 利博	科研費 特別推進研究	量子ヒステリシスを示すホリ酸ナノ磁性体の開発と分子磁性	2005	2007	研究期間中						研究終了後						181.1

■ : 科研費 ■ : JST ■ : NEDO ■ : その他

採択年度	研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	年度												金額(百万円)		
						00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11		12	
2002	明石 満	JST CREST「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」 □ JST 独自のシーズ展開事業	免疫制御能を有する高分子ナノ粒子ワクチンの製造	2007	2012															
			高分子オイルゲルによるPCB濃縮システム	2008	2009															
			交互積層法を用いる高分子超薄膜ナノマテリアルの創製に関する研究	2011	2011															11.3
			高分子の自己集合を用いる機能材料の創製と生医学領域への応用	2011	2015															98.0
			三次元ヒト胎盤バリア組織モデルの構築とナノ粒子毒性評価システムへの応用	2012	2013															
2002	北森 武彦	科研費 基盤研究(A) 科研費 特別推進研究 JST CREST「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」	マイクロ化学チップを用いた単一細胞内単一DNA分子分析法の開発	2008	2009													36.4		
			拡張ナノ空間流体工学の創成	2009	2012														306.8	
			拡張ナノ空間特異性を利用した革新的機能デバイスの創成	2009	2014															
2002	鈴木 孝治	JST 大学発ベンチャー創出推進 科研費 基盤研究(A) 科研費 基盤研究(A) 科研費 基盤研究(S)	医療・食品・環境計測に向けたマルチケミカルセンシングデバイスの開発と実用化	2005	2007															
			細胞・臓器イメージング用新規化学センシング分子試薬の開発	2008	2010														49.7	
			革新的高輝度近赤外発光イメージングプローブの創製	2012	2014														17.0	
			革新的高輝度近赤外発光プローブの創製と生体内癌イメージングへの応用	2012	2016														47.1	
2002	関根 光雄	文部科学省 ゲノムネットワークプロジェクト 科研費 基盤研究(A) 科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	新技術を基盤とした革新的遺伝子解析システムの開発	2004	2008															
			新時代の要求に対応できる革新的RNA合成法の開拓	2009	2011														25.5	
			機能性人工核酸の集積合成	2009	2013														35.1	
2002	松岡 英明	JST 戦略的国際科学技術協力推進事業 厚生労働科研費 健康安全確保総合研究分野 食品の安心・安全確保推進研究 文部科学省 特別教育研究経費 科研費 基盤研究(A)	食品試料からの微生物細胞の生菌としての音波分離	2007	2008															
			食品の規格基準に係る測定値に伴う不確かさに関する研究	2008	2010														35.4	
			次世代型バイオリソースの開発	2007	2011														166.2	
			ES細胞における未分化状態の動的制御機構の解析	2011	2014														37.4	
2003	片山 佳樹	JST 産学共同シーズイノベーション化事業(顕在化ステージ) 科研費 基盤研究(B) 科研費 新学術領域研究(研究領域提案型) 科研費 新学術領域研究(研究領域提案型) 科研費 基盤研究(A)	キナーゼペプチドアレイの創製および診断への応用検討	2008	2009															
			細胞内シグナル応答型遺伝子制御分子システムによるがんイメージング法の開発	2008	2010														19.9	
			機能性クロマチンモデルとしての人工遺伝子制御システムによる遺伝子転写調節概念	2009	2010														10.4	
			機能性クロマチンモデルとしての人工遺伝子制御システムによる遺伝子転写調節概念	2011	2012														9.2	
			抗がん剤投与前診断のための次世代ペプチドアレイ	2012	2014														16.8	
2004	由良 敬	文部科学省 ターゲットタンパク研究プログラム 技術開発「情報プラットフォーム」領域	タンパク質の複合体構造を推定するための構造バイオインフォマティクス	2007	2009															

2.2.2 論文

論文発表件数は研究者の研究活動を示す重要な指標であると考えられるため、本研究領域研究期間中の論文数と本研究領域終了後の論文数の推移を表 2-3 に示した。

各研究代表者の本研究領域終了後の論文発表数を見ると、大須賀、岡野、片岡、明石らがいずれも 100 報を越える論文を発表している。北森、関根、片山らも比較的に数多くの論文を発表している。

6 名の研究代表者において、本研究領域終了後の論文数が、本研究領域期間中の論文数を上回った。特に岡野、明石、片山の 3 名は、いずれも本研究領域終了後の発表論文数が同期間中の約 2 倍に伸びている点は特筆される。

全体での集計数では、本研究領域期間中の総論文数 1109 報、うち研究代表者を著者に含むものが 741 報に対して、本研究領域終了後の総論文数は 1001 報、うち責任著者論文数が 725 報となっている。

表 2-3 研究者の論文(原著論文)数

採択 年度	研究課題	研究代表者	① 本研究領域 期間中の 論文数	② ①のうち 研究代表者の 論文数	③ 本研究領域 終了後の研 究代表者の 論文数	④ ③のうち 責任著者論 文数
2001 年度	健康・福祉のための ナノバイオ材料およ びバイオ素子として の「スーパー抗体酵 素」の創製	宇田 泰三	25	25	12	10
	巨大ポルフィリンア レーのメゾスコピッ ク構造デバイス	大須賀 篤 弘	155	134	187	136
	新規組織再構成技術 の開発と次世代バイ オセンサーの創製	岡野 光夫	85	66	217	125
	生体分子間相互作用 を連続的に検出する ための多機能型水晶 発振子マルチセンサ の設計と開発	岡畑 恵雄	53	53	38	31
	遺伝子ベクターとし て機能するナノ構造 デバイスの創製	片岡 一則	216	129	140	100
	ナノクラスターポリ 酸を用いた分子機械 の構築	山瀬 利博	42	41	18	13
2002 年度	ナノ粒子を応用した 抗レトロウイルスワ クチンの開発	明石 満	48	43	127	104
	ナノ生物物理化学ア ーキテクチャの構 築と応用	北森 武彦	86	85	81	72
	ナノケミカルプロー ブの創製とバイオ・ 医療計測	鈴木 孝治	49	38	27	18
	ゲノム制御・検出能 をもつ革新的人工核 酸の創製	関根 光雄	153	71	58	46
	疾患モデル細胞の高 効率創製と機能解析	松岡 英明	122	27	15	11

2003 年度	細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製	片山 佳樹	63	25	72	52
2004 年度	低分解能生体超分子像からの原子構造構築技法	由良 敬	12	4	9	7

データ取得日

①、②は 2009 年 10 月 (ナノテクバーチャルラボ成果論文展開調査)

③、④は 2012 年 9 月

2.2.3 特許

特許出願件数は基礎研究から産業への貢献を分析する一つの指標であると考えられるため、本研究領域期間中と本研究領域終了後の特許出願数および登録数を各研究代表者について調査し、表 2-4 に示した。

本研究領域期間中に特許を出願したのは 13 名中 11 名であり、本研究領域全体の件数では研究代表者を発明者に含む国内出願は 173 件、国際出願は同じく 58 件と極めて多かった。この中で調査時点において特許として成立した件数は、国内 62 件、海外 45 件であった。

一方、本研究領域終了後に特許を出願したのは 9 名で、国内出願は 95 件、国際出願 37 件であった。このうち特許として成立している件数は、国内 8 件、海外 2 件であった。

本研究領域期間中の出願数の多かった研究代表者は、片岡(国内出願 35 件、国際出願 22 件)、関根(国内 32 件、国際 11 件)、北森(国内 24 件、国際 9 件)であった。

本研究領域終了後の出願数の多かったのは、岡野(国内出願 23 件、国際出願 6 件)、明石(国内：19 件、国際 8 件)、片岡(国内 13 件、国際 14 件)であった。

特許は、我が国の科学技術水準の高さの証明、権利化による優位性の確立と世界的な事業展開のため極めて重要である。これらの出願において国際出願の比率が高いことは、基本特許の多いこと、重要な出願が多いことを示している。

表 2-4 特許リスト

採択年度	研究代表者	本研究領域期間中				本研究領域終了以降			
		出願件数		登録件数		出願件数		登録件数	
		国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)
2001 年度	宇田 泰三	15	3	10	0	7	1	1	0
	大須賀 篤弘	14	1	3	0	0	0	0	0
	岡野 光夫	1	0	0	0	24	8	3	0
	岡畑 恵雄	0	0	0	0	1	1	1	0
	片岡 一則	39	22	15	27	13	14	2	1
	山瀬 利博	11	0	2	0	0	0	0	0
2002 年度	明石 満	7	6	2	3	26	7	1	1
	北森 武彦	22	9	10	3	10	4	0	0
	鈴木 孝治	20	4	8	2	0	0	0	0
	関根 光雄	34	11	9	8	3	0	0	0
	松岡 英明	5	2	3	2	2	1	0	0
2003 年度	片山 佳樹	5	0	0	0	9	1	0	0
2004 年度	由良 敬	0	0	0	0	0	0	0	0

領域全体	173	58	62	45	95	37	8	2
------	-----	----	----	----	----	----	---	---

データ取得日：2012年9月

表 2-5 本研究領域研究期間中および本研究領域研究終了以降の成立特許

宇田 泰三

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
期間中	2002-2062 25	2004-0411 42	4149208	血栓の溶解を制御するペプチドおよびその利用	科学技術振興事業団	宇田 泰三 山田 學 堀内 俊孝 一二三恵美			
	2003-1982 70	2004-0972 11	4334931	新規抗体酵素生産方法および新規抗体酵素	科学技術振興事業団	宇田 泰三 一二三恵美			
	2002-2062 84	2004-0411 43	4316194	抗体酵素の活性向上法	科学技術振興事業団	宇田 泰三 松浦 欽司 一二三恵美			

期 間 中	2003-1982 81	2004-0972 12	4330947	ヘリコバクター・ピロリ菌のウレアーゼに対する抗体酵素、それをコードする遺伝子、その遺伝子が導入された形質転換体、及びそれらを利用したヘリコバクター・ピロリ菌感染患者の治療薬と感染予防剤	科学技術振興事業団	宇田 泰三 一二三恵美 藤井 亮治 森原 史子 近本 肥干			
	2003-1982 92	2004-3131 66	4330948	ケモカインレセプターCCR-5に対する抗体酵素、それをコードする遺伝子、その遺伝子が導入された形質転換体、及びそれらを利用した抗HIV薬剤	独立行政法人科学技術振興機構	宇田 泰三 一二三恵美 山本 直樹	W02003J P09147	W020040 09805	
	2003-0546 54	2004-2610 80	4294342	ヘリコバクター・ピロリ菌に対するワクチン用タンパク質、それをコードする遺伝子、該タンパク質を利用したワクチン、及びそれらの利用方法	独立行政法人科学技術振興機構、株式会社福山臨床検査センター	宇田 泰三 藤井 亮治 一二三恵美 森原 史子			
	2005-1741 61	2006-3479 22	4758148	インフルエンザウイルスのヘマグルチニンに対する抗体酵素	広島県	宇田 泰三 一二三恵美 高尾 信一			
	2005-3708 80(優先権 2004-3722 06)	2006-1979 30	4829609	ヒト抗体酵素およびその生産方法	広島県	宇田 泰三 一二三恵美			
	2006-0236 38	2007-2024 43	4777785	ケモカインレセプターCCR5のN末端領域に対する抗体酵素	独立行政法人科学技術振興機構	宇田 泰三 一二三恵美 岡村 好子			

期 間 中	2006-0236 65	2007-2024 44	4861019	ヒトTNF- α に対する抗体酵素およびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	宇田 泰三 一二三恵美 岡村 好子	W02007J P51418	W020070 88823	
終 了 以 降	2008-1102 20	2008-2839 67	4298779	血栓の溶解を制御するペプチドおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	宇田 泰三 山田 學 堀内 俊孝 一二三恵美			

大須賀 篤弘

区 分	出願番号	公開番号	特許 番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出 願番号	国際公 開番号	海外で の成立
期 間 中	2002-2636 01	2004-0995 21	4282292	ヘキササン可溶性ヘキサフィリン	科学技術振興事業団	大須賀篤弘			
	2004-0233 34	2005-2132 19	4573259	ジポルフィリン誘導体及びポリポルフィリン誘導体	国立大学法人京都大学、ローム株式会社、三菱化学株式会社、株式会社日立製作所、パイオニア株式会社、日本電信電話株式会社	大須賀篤弘			
	2004-3803 48	2006-1827 34	4776920	ベンゾヘキサフィリン誘導体	国立大学法人京都大学、日本電信電話株式会社、ローム株式会社、株式会社日立製作所、パイオニア株式会社、三菱化学株式会社	大須賀篤弘			

岡野 光夫

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
終了以降	2007-010452	2008-173333	4569971	治療用物質の運搬投与器具	HOYA株式会社、学校法人東京女子医科大学、学校法人立命館、国立大学法人名古屋大学	前田 真法 谷治 尚子 岡野 光夫 大和 雅之 伊関 洋 清水 達也 堀 貞夫 小西 聡 生田 幸士			
	2007-135659	2008-289375	4822012	紐状の心筋細胞集合体を形成するための細胞培養支持体	大日本印刷株式会社、学校法人東京女子医科大学	渡辺 正直 岡野 光夫 大和 雅之 清水 達也 秋山 義勝	US20080122194	US2008293139	
	2008-101939	2009-213460	4982768	粒子処理用マイクロ流路システムおよび粒子処理方法	学校法人東京女子医科大学	山田 真澄 小林 純 大和 雅之 関 実 岡野 光夫			

岡畑 恵雄

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
終了以降	2009-208631	2010-163421	4801193	抗歯周病菌剤及びそれをを用いた医療用または歯科用材料	福島 忠男、株式会社マルハニチロ食品	福島 忠男 早川 徹 岡畑 恵雄 御手洗 誠 庵原 啓司 江成 宏之 関戸 治知	W02009JP71231	W02010071217	

片岡 一則

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
期間中	2006-2484 3 2006-2484 5			TGF- β シグナル阻害剤と抗腫瘍剤の組み合わせ使用	国立大学法人東京大学	片岡 一則 宮園 浩平 狩野 光伸 バエ・ヨウンスー 西山 伸宏 平川 弘聖 八代 正和	PCT/JP2 006/317 593	W020070 88651	US77325 61 (B2)
	2005-2537 82	2008-2893 62		マイクロパターンニング培養基板、マイクロパターンニング培養構築物及びこれらの作成方法	国立大学法人東京大学	片岡 一則 平野 寛浩	PCT/JP2 006/316 918	W020070 29554	
	2005-1699 17			白金錯体のポリマー化配位化合物の製造方法	ナノキャリア株式会社、国立大学法人東京大学	小林 克利 長崎 尚子 片岡 一則 土屋千映子	PCT/JP2 006/311 969	W020061 32430	US77816 07 (B2) RU23820 56 (C2) CN10120 3549 (B) AU20062 55938 (B 2)
	2005-1343 50		4992090	静電結合型高分子ベシクル	国立大学法人東京大学	片岡 一則 小出 彩 長田 健介 山崎 裕一 福島 重人 パク ジュンシク	PCT/JP2 006/309 008	W020061 18260	
	2005-0801 17		4992089	ジアミノシクロヘキサン白金(II)とブロック共重合体との配位化合物及びそれを含有する抗がん剤	国立大学法人東京大学	片岡 一則 西山 伸宏 カブラル・ホラシオ	PCT/JP2 006/305 750	W020060 98496	EP18676 73 (B1)

期 間 中	2005-0352 33			ポリカチオン荷電性 ポリマー及び核酸の キャリアーとしての 使用	国立大学法 人東京大学	片岡 一則 位高 啓史 西山 伸宏 福島 重人 張 祐銅 宮田完二郎 中西 政崇 浅野 俊策 金山 直樹	PCT/JP2 006/302 577	W020060 85664	US78296 57 B2)
	2004-2548 24	2006-0678 89		PEOと二本鎖核酸 のコンジュゲート	独立行政法 人科学技術 振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 大石 基	PCT/JP2 005/158 31	W020060 25419	KR10086 5062 (B1)
	2004-1221 24		4743714	PEG-機能性核酸 コンジュケート	独立行政法 人科学技術 振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 佐々木茂貴 永次 史 大石 基	PCT/JP2 005/075 68	W020051 00447	US76423 43 B2) CA25629 38 (C)
	2004-0929 73	2005-2811 38	4590198	葉酸誘導体の製造方 法	独立行政法 人科学技術 振興機構	片岡 一則 秋山 好嗣			
	2004-0336 96	2005-2257 72	4644430	炭素化合物の封入さ れた微小粒子の複合 体	独立行政法 人科学技術 振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 小高 亮輔			
	2004-0249 30	2005-2149 07	3774460	物質の検出方法	独立行政法 人科学技術 振興機構	長崎 幸夫 網干 史子 高橋 唯仁 片岡 一則			
	2003-3526 69	2005-1146 86	4355190	生物学的被検体の高 速検出方法	独立行政法 人科学技術 振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 高橋 唯仁 石井 武彦	PCT/JP2 004/132 58	W020050 36172	US77321 58 (B2) CA25423 26 (C)
	2003-3526 66	2005-1130 90	4746834	炭素化合物を内包す る微小粒子の複合体	独立行政法 人科学技術 振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 小高 亮輔	CN20048 029482	CN18638 66 (A)	CN10057 7728 (C)

期間中

2003-3158 58	2004-3529 72	4535229	ポリエチレングリコール-ポリカチオンブロック共重合体	国立大学法人 東京大学	片岡 一則 金山 直樹 位高 啓史 福島 重人 原田 敦史	PCT/JP2 004/064 88	W020040 99287	EP16215 69(B1) US77809 57(B2) KR10111 1926(B1) CA25249 07(C) AU20042 36542(B 2)
2003-1183 79	2004-2110 52	4086188	架橋ポリマー、ポリマー微粒子およびそれらの製造方法	独立行政法人 科学技術振興機構	片岡 一則 長崎 幸夫 大塚 英典 小倉 敦彦 石井 武彦 林 寿人 宇野 徹平			
2003-0939 00	2004-3002 53	4181435	ポリエチレングリコール修飾半導体微粒子、その製造法及び生物学的診断用材料	日油株式会社、学校法人 東京理科大学	小倉 敦彦 姜 義哲 片岡 一則 長崎 幸夫	US20040 810305	US20042 50745 (A1)	US70413 71(B2)
2003-0490 00	2004-2566 76	4084679	ポリ(エチレンオキシド)誘導体およびその重合開始剤としての用途	独立行政法人 科学技術振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 大石 基 香川 英次			
2003-0412 75	2004-2505 37	4109559	オリゴヌクレオチドとポリエチレンオキシドのコンジュゲート	独立行政法人 科学技術振興機構	長崎 幸夫 片岡 一則 大石 基 秋山 好嗣 葉山 哲也 佐々木茂貴			
2002-1218 50	2004-0677 03		架橋ポリマー、微粒子および製造方法	科学技術振興事業団、日本 油脂株式会社	片岡 一則 長崎 幸夫 大塚 英典 小倉 敦彦 石井 武彦 林 寿人	PCT/JP2 003/051 44	W003091 302	US71292 93 (B2) CN10034 9938 (C)

期 間 中			3955992	ジアミノシクロヘキサ ン白金(II)とボ リ(カルボン酸)セグ メント含有ブロック 共重合体との配位錯 体、その抗腫瘍剤	株式会社東 京大学TL O	片岡 一則 西山 伸宏 カブラル・ ホラシオ 岡崎総一郎	PCT/JP2 004/018 679	W020050 56641	EP16959 91 (B1) US80124 63 (B2) RU23355 12 (C2) CN10045 7185 (C) CA25484 57 (C) AU20042 97126(B 2)
			4763459	安定化高分子ミセル	株式会社東 京大学TL O	片岡 一則 山崎 裕一 原 暁非 原田 敦史 モントゥリ ー・ジャト ウランピン ヨ	PCT/JP2 004/007 583	W020041 05799	
	2002-0652 98			増大した密度のポリ (エチレンオキシド) のブラシ様構造表面	株式会社東 京大学TL O	片岡 一則 長崎 幸夫 大塚 英典 内田 勝美 高橋 唯仁 加藤 美紀	PCT/JP0 3/02744	W003076 933	US72145 00 (B2)
終 了 以 降				ジスルフィド架橋高 分子ミセルを用いた 環境応答性 siRN Aキャリア	国立大学法 人東京大学	片岡 一則 西山 伸宏 松本 悟	W02007J P73130	W020080 62909	US81531 10 B2)
			4582821	カチオン性のポリ (アミノ酸)およびそ の使用	国立大学法 人 東京大学	片岡 一則 呉 寿栄 石井 武彦、 キム・ヒュ ンジン 宮田完二郎 西山 伸宏	W02010J P52176	W020100 93036	

終了以降	2010-0370 14	2011-1738 02	4655298	短鎖のカチオン性ポリアミノ酸およびその使用	ナノキャリア株式会社、 国立大学法人 東京大学	加藤 泰己 石井 篤史 柴田 直哉 林 達之 片岡 一則 宮田完二郎 西山 伸宏	W02011J P53917	W020111 05402	
------	-----------------	-----------------	---------	-----------------------	----------------------------	--	-------------------	------------------	--

山瀬 利博

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
期間中	2003-1387 71	2004-3390 15	4316291	抗MRSA剤	独立行政法人 科学技術振興機構	山瀬 利博			
	2004-1177 45	2005-2984 17	4571817	抗菌剤	独立行政法人科学技術振興機構	山瀬 利博			

明石 満

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
期間中	2005-2245 19			アジュバントとしてのポリアミノ酸	大鵬薬品工業株式会社、 明石 満、馬場 昌範	明石 満 馬場 昌範	W02006J	W020061	US77856 12(B2)
	2005-2701 46						P308218	12477	US80171
終了以降	2008-1140 72	2009-2615 82	4164119	有機-無機ハイブリッドディスクの製造方法及びその方法に用いる構造物	株式会社ビーエムティーハイブリッド	明石 満 大西 瑞男 加藤 真哉	US20090 458895	US20092 85901	54(B2) EP18727 93(B1)
	2010-5054 84			生体吸収性材料およびそれを用いた生体内留置物	テルモ株式会社	明石 満 松崎 典弥 藤田陽太郎 大西 誠人	PCT/JP2 009/053 929	W020091 19258	US82223 49(B2)

北森 武彦

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
期間中	2005-1487 19	2006-3208 77	4590557	マイクロミキサーおよび流体の攪拌方法並びに流体の混合方法	国立大学法人 東京大学	北森 武彦 金 幸夫 佐々木直樹			
	2005-1487 20	2006-3208 78	4590558	流体混合装置	国立大学法人 東京大学	北森 武彦 金 幸夫 佐々木直樹			
	2005-1447 39(優先権 2004-2770 42)	2006-1165 24	4657006	マイクロチップコネクタとマイクロチップ構成体	財団法人神奈川科学技術アカデミー	森島 圭祐 渡慶次 学 北森 武彦			
	2005-5436 3	2005-1646 14 (特願平 11-238950 の分割)	4185061	デスクトップ熱レンズ顕微鏡装置	団法人神奈川科学技術アカデミー	北森 武彦 渡慶次 学 常見 亮			
	2004-3337 89	2005-1693 86	4523386	マイクロチャンネル内表面の部分化学修飾方法とマイクロチャンネル構造体	財団法人神奈川科学技術アカデミー	北森 武彦 火原 彰秀 上野 雅晴 渡慶次 学			
	2004-3380 02		4850072	マイクロチップ	日水製薬株式会社、財団法人神奈川科学技術アカデミー	赤羽 修一 奥 裕一 渡慶次 学 北森 武彦	W02005J P21231	W020060 54689	
	2003-3860 00	2005-1443 37	4230339	マイクロチャンネル内壁面の化学修飾方法	財団法人神奈川科学技術アカデミー	北森 武彦 火原 彰秀 上野 雅晴 渡慶次 学			
	2002-0709 86		4424993	気液二相流でのマイクロチップ内濃縮方法とそのためマイクロチップデバイス	財団法人神奈川科学技術アカデミー	北森 武彦 渡慶次 学 火原 彰秀	W02003J P02337	W003076 038	

期 間 中	2003-5142 69		4019044	多層流マイクロチャ ンネルの集積化構造 体とこれを用いる多 層流操作方法	財団法人神 奈川科学技 術アカデミ ー	北森 武彦 渡慶次 学 火原 彰秀	W02002J P00083	W003008 981	US74024 39 (B2)
	2003-5743 02		4424993	気液二相流でのマイ クロチップ内濃縮方 法とそのためマイ クロチップデバイス	財団法人神 奈川科学技 術アカデミ ー	北森 武彦 渡慶次 学 火原 彰秀	W02003J P02337	W003076 038	
				マイクロ化学システ ム用チップ部材、お よび該チップ部材を 用いたマイクロ化学 システム	日本板硝子 株式会社、財 団法人神奈 川科学技術 アカデミー	服部 明彦 山口 淳 北森 武彦 渡慶次 学	W02001J P10067	W002409 81	EP13388 90 (B1) CN12218 03 (C)

鈴木 孝治

区 分	出願番号	公開番号	特許番 号	発明の名称	出願人	発明者	国際出 願番号	国際公 開番号	海外で の成立
期 間 中	2006-5423 43 (優先権 2004-3156 99)		4649416	MALDI-TOF MS用基板及びそれ を用いた質量分析方 法	独立行政法 人科学技術 振興機構	本田 亜希 鈴木 孝治	W02005J P19900	W020060 46697	EP18301 84(B1)
	2004-3418 11	2006-1535 48	4518923	被検物質の定量方法	独立行政法 人科学技術 振興機構	石原 才子 荒木 敬夫 チツテリ オ・ダニエ ル 萩原 将文 鈴木 孝治 丸山 健一			
	2004-3656 71	2006-1668 30	4690027	プロテアーゼ活性の 測定方法及びそのた めの試薬	独立行政法 人科学技術 振興機構	本田 亜希 鈴木 孝治			
	2005-1778 14	2006-3458 01	4863654	環境中のアレルゲン の測定方法及び簡易 アレルゲン定量キッ ト	独立行政法 人科学技術 振興機構	本田 亜希 鈴木 孝治			

期 間 中	2006-1262 08			蛍光性化合物及びそ れから成る標識剤	学校法人慶 應義塾	鈴木 孝治 梅澤啓太郎 牧野 弘 チツテリ オ・ダニエ ル	W02007J P59168	W020071 26052	US81933 50(B2)
	2004-0636 70	2005-2453 81	4480423	免疫細胞クローンの 拡大の有無の判定方 法	独立行政法 人科学技術 振興機構	本田 亜希 鈴木 孝治			
	2004-2663 04	2006-0841 83	4524442	超微小酵素電極	独立行政法 人科学技術 振興機構	鈴木 孝治 丸山 健一			
	2004-2774 06	2006-0908 75	4513093	電気化学測定用炭素 電極及びその製造方 法	独立行政法 人産業技術 総合研究所、 学校法人慶 應義塾、エ ヌ・ティ・テ ィ・アフティ 株式会社	丹羽 修 佐藤 緑 丸山 健一 鈴木 孝治 廣野 滋			
	2004-3037 93	2006-1188 61	4856866	ガス中の被検物質検 出器及びそのための ホルダー	財団法人神 奈川科学技 術アカデミ ー	鈴木 孝治 鈴木 祥夫			

関根 光雄

区 分	出願番号	公開番号	特許 番号	発明の名称	出願人	発明者	国際出 願番号	国際公 開番号	海外で の成立
期 間 中	2004-4760 5		5006033	電気化学的に活性な 配列特異的二本鎖核 酸分子検出用リガン ド	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 水田 昌宏 寺田 武史	W02005J P03440	W020050 87784	US78634 55(B2)
	2004-5670 7			塩基部無保護法によ る新規核酸合成法	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 大窪 章寛	W02005J P03053	W020050 82923	US78078 21(B1)
	2004-0493 03	2005-2396 04	4550447	核酸固相合成用シリ ルリンカー	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 大窪 章寛	W02005J P02059	W020050 80404	US77862 96(B2)

期 間 中	2004-0493 12	2005-2396 05	4628686	ホスホロアミダイト を含む3'末端スク レオシドユニット	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 大窪 章寛	W02005J P02058	W020050 80411	US79437 58(B2)
	2004-6026 1		4805143	2'水酸基を修飾さ れた新規人工RNA	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 実吉 尚郎	W02005J P03459	W020050 85271	US75696 85(B2) CA25773 39(C)
	2004-0569 89	2005-2477 11	4643156	N-アシルスルホン アミド結合を有する 新規ホスミドシン類 縁体	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 田口 晴彦			
	2004-0616 27	2005-2477 71	4676148	芳香族性置換基を導 入した修飾4-N-カ ルバモイルシチジン	独立行政法 人科学技術 振興機構	関根 光雄 清尾 康志 宮田 健一 玉虫 隆二			
	2005-0534 17		4882074	オリゴヌクレオチド 誘導体、遺伝子検出 用プローブ及びDN Aチップ	国立大学法 人東京工業 大学	関根 光雄 清尾 康志 大窪 章寛 坂本 一石 佐々見武志	W02006J P303772	W020060 93157	US78511 57(B1)
	2005-1966 80	2007-0159 48	5017639	ヌクレオシド誘導体	国立大学法 人東京工業 大学	関根 光雄 宮田 健一 峯尾 良太 清尾 康志			
	2005-0648 83	2006-2489 29	4797156	リボヌクレオシドの 2'水酸基の脱保護 方法	国立大学法 人東京工業 大学	関根 光雄 實吉 尚郎 清尾 康志	W02006J P304399	W020060 95739	
				2'水酸基修飾リボ ヌクレオシド誘導体	国立大学法 人東京工業 大学	関根 光雄 山田 剛史 実吉 尚郎 清尾 康志	W02007J P54533	W020071 02581	US80396 11(B2)

松岡 英明

区 分	出願番号	公開番号	特許番 号	発明の名称	出願人	発明者	国際出 願番号	国際公 開番号	海外で の成立
期 間 中	2005-0333 68	2006-2180 35	4701382	心筋移植片の作製方 法及び心筋分化促進 剤	国立大学法 人東京農工 大学	松岡 英明 斉藤美佳子 佐々木俊也			

期 間 中	2005-3707 18	2007-1670 06	4828933	微小物質移送方法お よび微小物質移送用 ピペット	中央精機株 式会社、国立 大学法人東 京農工大学	山田 洋平 松橋 一男 斉藤美佳子 松岡 英明			
	2004-5273 03		4802319	単一細胞操作支援ロ ボット	国立大学法 人東京農工 大学	松岡 英明 斉藤 佳子	W02002J P08139	W020040 15055	
				単一細胞操作支援ロ ボット	国立大学法 人東京農工 大学	松岡 英明 斉藤美佳子	W02005J P14080	W020060 40870	EP18183 90(B1)U S787544 7(B2)

2.3 アウトカム

2.3.1 科学技術的アウトカム

(1) 各種の受賞

本研究領域成果の科学技術的アウトカムを示す指標の一つとして各種機関からの受賞に着目し、本研究領域終了以降の研究代表者の受賞について調べた結果を表 2-6 に示した 10 名の研究代表者が受賞しており、中でも、片岡一則が江崎玲於奈賞、文部科学大臣表彰、フンボルト賞などの重要な賞を受けていることは特筆される。同じく、岡野光夫も文部科学大臣表彰、山崎貞一賞など科学技術全体への貢献を評価する賞を受賞している。

このほか学会賞として、大須賀篤弘と関根光雄が日本化学会賞を、北森武彦が日本分析化学会学会賞をそれぞれ受賞している。この他、製品開発やものづくり関連の技術賞などの事例がある。

表 2-6 受賞リスト

受賞者	賞の名称	受賞年
大須賀 篤弘	第 62 回(平成 21 年度)日本化学会賞	2010
	りそな中小企業振興財団 第 20 回中小企業優秀新技術・新製品賞 産学官連携特別賞	2008
岡野 光夫	紫綬褒章	2009
	文部科学大臣表彰・科学技術賞(研究部門)	2009
	第 9 回(平成 21 年度)山崎貞一賞	2009
岡畑 恵雄	手島記念研究論文賞	2010
	日刊工業新聞社 第 3 回モノづくり連携大賞特別賞	2008
	Controlled Release Society Founders Award	2008
	NIMS Award 2009	2009
片岡 一則	Controlled Release Society College of Fellow	2010
	文部科学大臣表彰 科学技術賞	2010
	第 9 回江崎玲於奈賞	2012
	四川大学 名誉教授称号	2012
	フンボルト賞	2012
明石 満	International Union of Societies for Biomaterials Science and Engineering Fellow	2008
	日刊工業新聞社 ものづくり連携大賞・特別賞	2009
北森 武彦	IBM Faculty Award	2008
	日本分析化学会学会賞	2009
	Angewandte Chemie International Edition (ACIE) VIP (Very Important Paper)	2010
鈴木 孝治	日本分析化学会先端分析技術賞 JAIMA 機器開発賞	2009

受賞者	賞の名称	受賞年
関根 光雄	第 63 回日本化学会賞	2010
松岡 英明	電気化学会論文賞	2009
	日本分析化学会 Hot Article Award Analytical Sciences	2010
片山 佳樹	TANAKA ホールディングス 研究助成金制度 シルバー賞	2010
	Elsevier Top Reviewer	2011

2.3.2 社会・経済的アウトカム

(1) 新聞報道

岡野光夫の細胞シートの培養技術や、片岡一則の遺伝子ベクターや DDS 技術の研究成果はいずれも医療や社会のニーズが極めて高く、その実用化や企業との提携などに関する新聞報道・ニュースが多く、社会の関心の高さをうかがわせる。

本本研究領域研究後の報道回数を日本経済新聞と日経産業新聞の記事を検索して調べた結果、岡野光夫(52回：以下回数を記す)、片岡一則(29)、北森武彦(8)、明石満(7)らの記事が特に多かった。

(2) ベンチャー企業の活動、企業への技術供与

研究成果を特許などとして権利化し、製品や技術として実用化を進め、新産業の育成や技術革新に貢献する具体的な形態として、ベンチャー企業での活動や企業への技術供与などに着目した。ベンチャー設立の事例としては、株式会社セルシード(岡野)、株式会社イニシウム(岡畑)、ナノキャリア株式会社(片岡)、マイクロ化学技研株式会社(北森)、AISSY株式会社(鈴木)などが挙げられる。一方、企業への技術供与や共同研究としては、明石らが武田薬品工業株式会社、住友ベークライト株式会社と技術供与を進めているほか、岡野、片岡、北森も企業との製品化に向けた共同研究開発を行っている事例が挙げられる。

第 3 章 各研究課題の主な研究成果および波及効果

3.1 2001 年度採択課題

3.1.1 健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパー抗体酵素」の創製(宇田泰三)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究領域開始前に見出した、抗原を分解する酵素としての活性をもつ「スーパー抗体酵素」の本質的な理解と一般的な製法の確立を目指した。

② 期間中の研究成果

スーパー抗体酵素の酵素活性の中心であるアミノ酸三つ組残基(Asp1-Ser27a-His93)が germline に組み込まれていることを見いだしたことがブレイクスルーとなった。さらに、酵素活性が、抗体の一部を切り出すことによって押さえ込まれていた活性を回復し(仮説)、天然酵素に近い活性を実現することを示した。このようなコンセプトによるスーパー抗体酵素を Antigenase と命名した。

ヘリコバクター・ピロリ^{2),3)}や、HIV(エイズウイルス)のタンパクを分解する Antigenase の取得などにより、医薬用途への展開の可能性を示すことにも成功した。in vitro 研究段階のものが多かったが、一部動物実験も開始された。研究が進んだ段階で医療の専門家である西園晃(大分大学教授)を研究チームに迎え研究の更なる進展を図った。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Matsuura K, Ohara K, Munakata H, Hifumi E, Uda T,
“Pathogenicity of catalytic antibodies: Catalytic activity of Bence Jones proteins from myeloma patients with renal impairment can elicit cytotoxic effects.”,
Biological Chemistry, 387, 543-548, (2006)
- 2) Hifumi E, Hatiuchi K, Okuda T, Nishizono A, Okamura Y, Uda T,
“Specific degradation of H. pylori urease by a catalytic antibody light chain”
FEBS Journal, 272, 4497-4505, (2005)
- 3) Hifumi E, Morihara F, Hatiuchi K, Okuda T, Nishizono A, Uda T,
“Catalytic features and eradication ability of antibody light-chain UA15-L against Helicobacter pylori”
Journal of Biological Chemistry, 283, 899-907, (2008)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域における広範な基礎的成果をもとに、ヒト型スーパー抗体酵素の実用化へ向

けた研究を推進するため、2007年度よりCREST研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括堀池靖浩)研究課題「高機能分子『スーパー抗体酵素』の自動合成装置と大量合成」(研究代表者：宇田泰三)を推進している(下記引用参照)。本研究領域に参画していた一二三恵美も2005年度よりさきがけ研究領域「構造機能と計測分析」(研究総括：寺部茂)研究課題「インフルエンザウイルス計測・除去可能なスーパー抗体酵素」を推進している。その他、科研費基盤(B)「リウマチ治療を目的としたTNF- α に対するスーパー抗体酵素の開発」(2007年～2010年度)、インフルエンザウイルスの大流行を阻止するスーパー抗体酵素の創製」(2012年度より)において、医療への応用を目指した研究へと発展している。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後報告された原著論文などから、作用機構の研究としては次のような成果が得られた。

- (i) インフルエンザウイルスの感染タンパクに対する特異的なモノクローナル抗体酵素を調製し、*in vitro*試験でマウス型抗体酵素の有効性が確認された³⁾。
- (ii) リウマチ、敗血症などの起炎タンパクであるTNF- α に対する抗体酵素を調製し、TNF- α タンパク質の切断部位を明らかにした¹⁾。
- (iii) ピロリ菌ウレアーゼに対する抗体酵素を調製し、ウレアーゼタンパクの分解部位を明らかにし、マウス動物試験で胃内のピロリ菌の減少を確認した。また、ワクチン調製の可能性も提示した⁴⁾。
- (iv) ヒト型抗体酵素の大量調製法を目指して、抗体をgermlineの系を使って効率よく検出・増幅し、大腸菌で産生させる大量調整法の基盤を確立した¹⁾。

現在、*in vivo*試験を推進しており、その一環として狂犬病ワクチンを接種した人の血液からヒト型スーパー抗体酵素を精製することに成功し、狂犬病ウイルスと共にマウスに注射して観察した結果、通常は致死率100%であるところ約半数が生存するという結果が得られた²⁾。

② 社会・経済的波及効果

Antigenaseの利点としては、タンパク質とは異なり糖鎖の結合が必要ではないため、比較的合成による調製が容易であること、遺伝子組み換えでヒト型のAntigenase作製の実現可能性が高いこと、大量生産に適していることなどがあげられる。実用的な酵素活性を示すものはまだ一部でしかない点や、生体内での安定性、体内動態、酵素活性以外の生理

¹ CREST研究終了報告書

² 2012年2月29日付読売新聞、毎日新聞

作用など詳細を詰めなければならないが、本研究領域で取り組んだ抗体酵素の本質解明が医薬用途のみならず抗体研究にも大きく貢献することが期待できる。

また、スーパー抗体酵素は標的とする病原体や疾病タンパクを無毒化する作用を持つという意味で、新しいタイプの医薬或いは医療を提供できる可能性を示している。スーパー抗体酵素の医薬的応用が検討されている領域としては、HIV ウイルス、インフルエンザウイルス、ピロリ菌、肺がん、敗血症やリウマチ疾病タンパクである TNF- α などが挙げられこれらについては基礎試験での効果が確認されている。

新しいコンセプトの薬であるだけにこれら重要な疾患への実用化へのハードルは高いが、将来的には極めて大きなインパクトが期待される。

CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」研究課題「高機能分子「スーパー抗体酵素」の自動合成装置と大量合成」からは 22 件の特許出願がなされている(本資料 p. 22 参照)。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Hifumi E, Higashi K, Uda T,
"Catalytic digestion of human tumor necrosis factor- α by antibody heavy chain"
FEBS Journal, 277, 3823-3832, (2010)
- 2) Hifumi E, Honjo E, Fujimoto N, Arakawa M, Nishizono A, Uda T,
"Highly efficient method of preparing human catalytic antibody light chains
and their biological characteristics",
FASEB Journal, 26, 1607-1615, (2012)
- 3) Hifumi E, Takao S-I, Fujimoto N, Uda T
"Catalytic and biochemical features of a monoclonal antibody heavy chain,
JN1-2, raised against a synthetic peptide with a hemagglutinin molecule of
influenza virus",
Journal of the American Chemical Society, 133, 15015-15024, (2011)
- 4) Morihara F, Hifumi E, Yamada M, Nishizono A, Uda T,
"Therapeutic effects of molecularly designed antigen UREB138 for mice infected
with helicobacter pylori",
Biotechnology and Bioengineering, 100, 634-643, (2008)

④ その他

宇田泰三は 2007 年大分大学工学部応用化学科教授に就任し、細胞融合技術、タンパク質工学、遺伝子工学などバイオ、医療、計測、環境の分野を担当している。また、主たる共同研究者であった一二三恵美も、2007 年、同大学の全学研究推進機構の専任教授に就任し、抗体・酵素、ウイルス、バイオテクノロジー、遺伝子組み換え、抗体工学、医薬・診断薬などの教育と研究に携わっている。一二三恵美は 2005 年からはさきがけ研究領域「構造機能と計測分析」(研究総括:寺部 茂)研究課題「インフルエンザウイルスを計測・除去可能な「スーパー抗体酵素」」をテーマに研究を行った。

CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」研究課題「高機能分子

「スーパー抗体酵素」の自動合成装置と大量合成ではフランス INSERM の Prof. Kaveri のグループが研究チームに参画し、患者からの抗体酵素の取得、効能の確認などの役割を担っている。

3.1.2 巨大ポルフィリンアレーのメゾスコピック構造デバイス(大須賀篤弘)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

大須賀らは本研究領域開始前にすでに一連の環拡張ポルフィリン分子が1段階で容易に得られることを見出していたが³、更に将来の分子エレクトロニクスデバイスに向けて、巨大ポルフィリン分子や環拡張ポルフィリンの創製とそれらの電子・光メゾスコピック物性の研究を目指した。

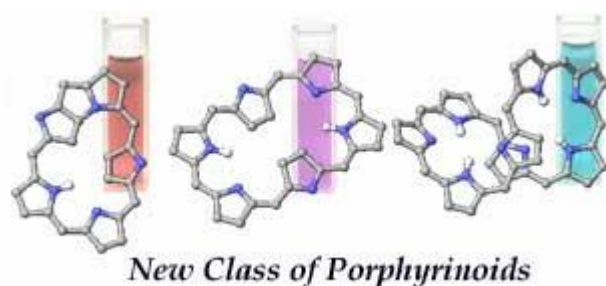


図 3-1 新しいポルフィリン類縁体⁴

② 期間中の研究成果

大須賀を中心に以下のようなチーム研究を進めた。

- (i) 新規ポルフィリノイド分子の合成(大須賀グループ)：巨大ポルフィリンアレーの合成と環拡張ポルフィリンの合成
- (ii) 巨大ポルフィリノイドの単一分子計測(松本グループ)：金属表面に吸着されたポルフィリンアレーの単分子観測や物性評価
- (iii) ナノギャップ電極接合(小川グループ)：金属表面に吸着されたポルフィリンアレーの単一分子伝導

世界初となった数多くのポルフィリン分子の合成に成功した^{1), 2), 3)}ことに加え、光学材料や分子エレクトロニクス等のデバイス化を目指した基礎物性の測定や技術開発を展開した。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Tanaka Y, Hoshino W, Shimizu S, Youfu K, Aratani N, Maruyama N, Fujita S, Osuka A,
"Thermal Splitting of Bis-Cu(II) Octaphyrin(1.1.1.1.1.1.1.1) into Two Cu(II) Porphyrins",
Journal of the American Chemical Society, 126, 3046-3047, (2004)
- 2) Peng X, Aratani N, Takagi A, Matsumoto T, Kawai T, Hwang I-W, Ahn TK, Kim D, Osuka A,
"A Dodecameric Porphyrin Wheel",

³ J. Y. Shin et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 7190, 2001

⁴ 大須賀研 HP

Journal of the American Chemical Society, 126, 4468-4469, (2004)

- 3) Hata H, Shinokubo H, Osuka A,
"Highly regioselective Ir-catalyzed β -borylation of porphyrins via C-H bond activation and construction of β - β -linked diporphyrin",
Journal of the American Chemical Society, 127, 8264-8265, (2005)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域終了後も様々なポルフィリン多量体の合成に成功し、ポルフィリン化学の研究コミュニティで存在感を示している。科研費挑戦的萌芽研究「ポルフィリン直結合ピンスー配位子の集積化と新規触媒機能の開拓」(2008~2009年度、以下「科研費1」)、科研費挑戦的萌芽研究「ポルフィリンチューブの合成と機能」(2011~2013年度、以下「科研費2」)、および科研費新学術領域研究「新規共役ポルフィリノイドの開発とその集積化による高次 π 空間の構築⁵」(2008~2013年度; 領域代表: 赤阪健、以下「科研費3」)の競争的研究助成金を獲得して研究を進めている。

① 科学技術の進歩への貢献

独自に開発したメゾ-メゾ結合反応による超ポルフィリン多量体の合成技術によって、アレイ、リング、シート、テープなどの構造デバイスの素材分子の提供を可能にした。現在、さらにポルフィリンチューブの合成を目指した研究を進めている。その中で、ニッケル、銅、亜鉛などとの金属錯体を形成させたポルフィリンのベータ位を、ピリジル基を介して結合させた4量体が環状構造をとることを確認した⁶。この分子はナノチューブのポルフィリン版といえる画期的なもので、今後広い分野でインパクトのある構造デバイスとなる可能性がある。

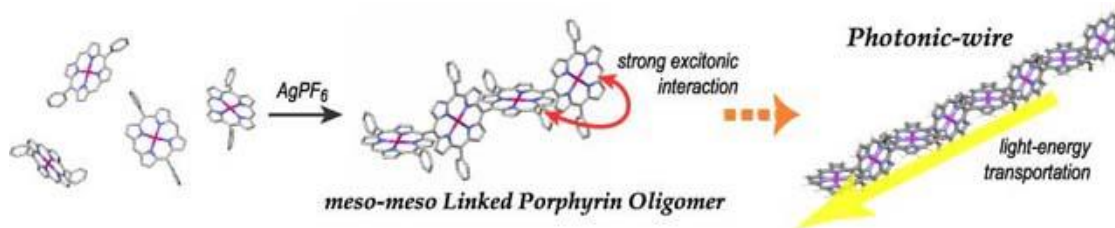


図 3-2 メゾ-メゾ結合ポルフィリン多量体の合成⁷

この他、超ポルフィリン多量体の機能開発を図る基礎として π 電子共役・分子構造と 2 光子吸収断面積との関係を明らかにし、巨大な 2 光子吸収断面積を持つ共役ポルフィリンアレイや環拡張ポルフィリンを開発している。4 つ以上のピロール環で環状を形成する環拡張ポルフィリンは柔軟な骨格をもつことから、複数の金属を配位でき光学的に近赤外領域にまで吸収を示す性質がある。最近では環拡張ポルフィリンであるヘキサフィリン、オ

⁵ 大須賀篤弘が A02 班「 π 電子化合物の集積化による高次 π 空間の開発」班長を務める。

⁶ 科研費 1、2 研究実績報告書参照

⁷ 大須賀研 HP より

クタフィリンの金属錯体が $4n\pi$ 電子共役系とねじれた環状構造によりメビウス芳香族性を持つことを見出している(科研費³⁾、論文リスト⁴⁾及び以下の脚注の文献参照⁸⁾。

メゾーメゾ結合ポルフィリン多量体、メゾーベータ結合ポルフィリン多量体が示すポリマーの物性、機能的性質、あるいは種々の金属錯体ポルフィリンなど材料化学や金属触媒化学の発展へ大きく貢献することが期待される。

今後はこれらの多様なポルフィリン多量体を基に、学的効果、電気化学的性質、磁気的性能、触媒機能などの機能開発につながる研究へと幅広く展開することが期待される。

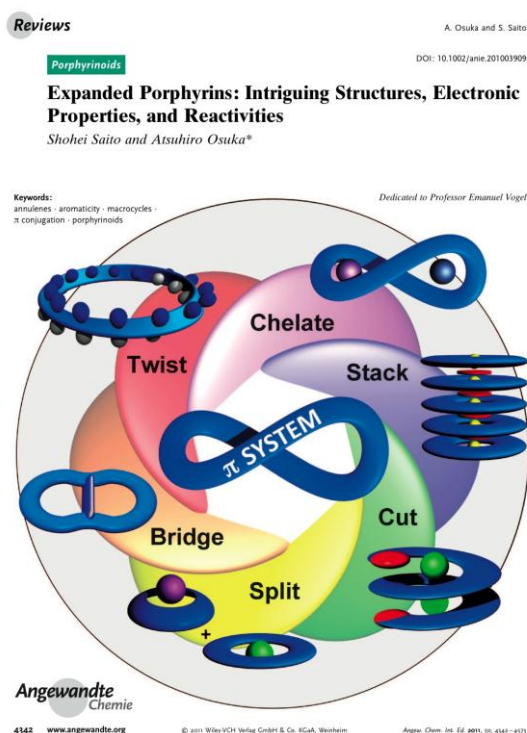


図 3-3 Angewandte 誌の表紙⁹⁾

本研究領域期間中に国際誌に投稿された原著論文数は 150 編以上であったが、それ以降の約 5 年間に投稿された論文数も約 180 編に上っている。

② 社会・経済的波及効果

京都大学産学連携融合アライアンス「有機エレクトロニクス・デバイスに関する研究開発」に 2002 年より参画し¹⁰⁾、企業との共同研究を通して多数の特許を出願した。

ポルフィリンはもともと葉緑体の基本機能である光合成を担っている化合物であり、上

⁸⁾ J.K Park et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 130 (6), 1824–1825, 2008

Inoue, M. et al., *Chemistry - A European Journal*, 17, 33, 89028-89031, 2011

⁹⁾ Angewandte Chemie - International Edition Volume 50, Issue 19, 2 May 2011

¹⁰⁾ 日経 BP2008 年 9 月 18 日付記事

記のような研究が発展することにより将来的には効率をより向上させた人工光合成系や光エネルギーデバイスなどの創製へとつながる可能性がある。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Nakamura Y, Aratani N, Osuka A,
“Cyclic porphyrin arrays as artificial photosynthetic antenna: Synthesis and excitation energy transfer” ,
Chemical Society Reviews, 36, 831-845, (2007)
- 2) Tanaka Y, Saito S, Mori S, Aratani N, Shinokubo H, Shibata N, Higuchi Y, Yoon Z S, Kim K S, Noh S B, Park J K, Kim D, Osuka A,
“Metalation of expanded porphyrins: A chemical trigger used to produce molecular twisting and Möbius aromaticity”
Angewandte Chemie - International Edition, 47, 681-684, (2008)
- 3) Sankar J, Mori S, Saito S, Rath H, Suzuki, M, Inokuma Y, Shinokubo H, Kil, S K, Zin S Y, Shin J-Y, Jong M L, Matsuzaki Y, Matsushita O, Muranaka A, Kobayashi N, Kim D, Osuka A,
“Unambiguous identification of Möbius aromaticity for meso-aryl-substituted [28]hexaphyrins(1.1.1.1.1.1)” ,
Journal of the American Chemical Society, 130, 13568-13579, (2008)
- 4) Saito S, Osuka A,
“Expanded porphyrins: Intriguing structures, electronic properties, and reactivities”,
Angewandte Chemie - International Edition, 50, 4342-4373, (2011)

④ その他

大須賀は2009年にNOZOE MEMMORIAL LECTRESHIP AWARD、2010年に日本化学会賞を受賞した。その他、Journal of Porphyrins and Phtalocyanines の副編集長や関係学会の Boardなどを務めている。

3.1.3 新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製(岡野光夫)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

モノクローナル抗体や特異性の高い酵素を固定化した従来型バイオセンサーに続き、細胞や組織を導入した次世代型バイオセンサーの開発の機運が世界的に高まる中¹¹、ナノドメイン操作材料を駆使して「新規組織化技術」を創製・再構築し、細胞がもつ情報処理能力を効率的に活用するための「次世代センサー技術・細胞センサー化技術」の開発を目指した。

② 期間中の研究成果

新規組織再構成技術においては既に開発されていたナノメートルの厚みで制御された高分子固定化技術を深化させ、肝一内皮細胞の共培養を可能とし且つ細胞シートとして回収できる培養皿の作製に成功した。この技術により最終目的としている細胞間の情報伝達計測への道を拓いた。

バイオセンサー技術としては従来技術にはなかった人工酵素を用いたバイオセンサーの開発に成功し、生体への影響の質を測定する「定質」バイオセンサーという新しい分析コンセプトを提起した。また遺伝子組換え技術により新しいセンサー細胞を作製するとともに、従来の細胞毒性の測定方法より10倍程度高感度で測定時間も短縮できる毒性センサーを開発し塩化カドミウムの毒性測定に応用して成果をあげた³⁾。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Yamamoto K, Adachi E, Nagai S, Kikuchi A, Maeda N, Watanabe H, Okano T, Tano Y,
"Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium",
New England Journal of Medicine, 351, 1187-1196, (2004)
- 2) Kobayashi J, Yamato M, Itoga K, Kikuchi A, Okano T,
"Preparation of microfluidic devices using micropatterning of a photosensitive material by a maskless, liquid-crystal-display projection method",
Advanced Materials, 16, 1997-2001, (2004)
- 3) Wada K-I, Taniguchi A, Kobayashi J, Yamato M, Okano T,
"Live cells-based cytotoxic sensorchip fabricated in a microfluidic system",
Biotechnology and Bioengineering, 99, 1513-1517, (2008)

¹¹ 例えば、アメリカ国防総省が1998年から4年間24億円という規模の研究プログラム(Tissue-Based Biosensor Program)を立ち上げた。

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域において確立された温度応答性培養皿を用いた細胞シートの作成技術は再生医療のニーズにマッチするもので、細胞シートを使った組織再生への応用が急速に進みだした。再生医療に携わる医学グループとの連携を生かし、“細胞シート工学”といえる技術領域を生み出し医療現場での実用化に向けて世界の先端を走っている。

2009年にFIRSTにおいて「再生医療産業化に向けたシステムインテグレートー臓器ファクトリーの創生ー」(2009～2013)を推進している。また、NEDOプロジェクト「次世代機能代替技術の研究開発」(2010～2015年度;PL:岡野光夫)においても実用化を目指した研究開発を推進している。その他、科研費基盤(B)「機能化温度応答性ナノ表面の創製とタンパク・細胞接脱着制御に関する研究」(2008～2010年度)を獲得している。また、MEXT 振興調整費先端融合領域イノベーション創出拠点の形成プログラム「再生医療本格化のための最先端技術融合拠点」に選定されている。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域以後、細胞の培養方法の改良、培養する細胞種類の拡大、接着分子や細胞外マトリックスによる基底層の研究などに注力した。培養された細胞シートの基底には細胞接着タンパクなどから成る基底層が形成されており、移植する組織への接着が容易なことから心臓の表面などへの生着が可能になった²⁾。また、チューブ化細胞シートの作製や多様な細胞との共存の研究も行われ、将来、立体的な組織や臓器への展開を目指している。

当面、最大の目標として取組んでいるのが細胞シートの大量供給を可能とする工学技術および自動化のための培養技術の改良、シートの品質の安定化、装置や機材の開発などである。例えば自動化の重要な要素技術である細胞シート回収の改良技術として、離脱速度を速めるためのPIPAAm材質や基板形状などが詳細に検討された³⁾。最近ではビーズ表面への温度応答性高分子固定化技術を利用し¹⁾、100-200マイクロメートルのポリスチレン製温度応答性ビーズが高密度培養用に設計されている¹²⁾。

また、火傷への皮膚シート、口腔粘膜細胞からの角膜上皮シート(大阪大学)、食道がん上皮再生シート(東京女子医科大学)、歯根膜シート(東京女子医科大学)、軟骨シート(東海大学)など、医療機関と協力した臨床応用も積極的に進めている。中でも、心筋梗塞や心不全患者への大腿筋由来細胞シートを貼りつけた臨床研究(大阪大学)では患者10人全員が機能を回復し退院した。その他、肝臓、血管、膀胱などへの適用も検討されている⁴⁾、¹³⁾。

本研究領域終了後も多数の論文を発表しておりその数は約200編に達した。

② 社会・経済的波及効果

2008年、東京女子医科大学と早稲田大学が医工連携の共同施設となる先端医科学研究教育施設(通称TWIns)を設立した。共同施設には両大学のほか日立製作所株式会社、テルモ株式会社、オリンパス株式会社、日本光電工業株式会社、大日本印刷株式会社、旭化成クラレメディカル株式会社、エイブル株式会社などの企業が参加して、細胞シートを調製す

¹²⁾ 科研費 基盤(B)「機能化温度応答性ナノ表面の創製とタンパク・細胞接脱着制御に関する研究」(2008-2010年度)

¹³⁾ 日経産業新聞 2012年3月9日付記事など

る装置の開発、自動化の設計などを行い、細胞シート技術の産業化と、さらに自動化装置「組織ファクトリー¹⁴」の実現を目指している¹⁵。

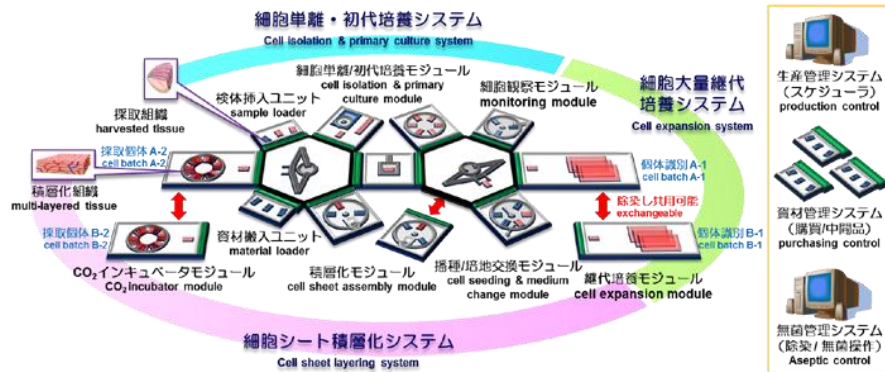


図 3-4 自動化装置「組織ファクトリー」の概念図¹⁶

実際のシートの作製や提供は関連するベンチャー企業、株式会社セルシードが担当している。同社の細胞シートを培養するための温度応答性培養皿は UpCell®の商品名で提供されており広く海外でも使われている。同社はこれら細胞シートの基本技術に関する国内・国際特許を申請し、角膜再生上皮シートや食道再生上皮シートの臨床開発を行っている¹⁷。海外からの関心も極めて高く、フランスではセルシード社が現地の医療機関と協力して角膜の治験を 2007 年から実施した。既に試験は終了しフランスを初め欧州の規制当局に製造販売の申請を提出した。同社は UpCell®の世界的導入と普及を目指した活動を進めており、欧州の他にも、南アフリカ、イスラエル、豪州などの市場での商品化を検討している。

また、2008 年内閣府・厚生労働省による先端医療開発特区(通称スーパー特区)「細胞シートによる再生医療実現プログラム」が開始され、東京女子医科大学が中核となり国立成育医療センター・長崎大学・大阪大学・東北大学のほか上記 TWIns の企業も参加し臨床応用と産業化を目指した研究が推進された。2012 年、テルモ社は世界初の細胞シートによる心筋再生治療治験を国内で開始した。

細胞シートを用いた再生医療技術を実現するためには医薬品とは異なる評価基準や条件付承認制度、保険適用などの検討が必要となるとみられ、日本再生医療学会(岡野光夫理事長)は薬事法の改正など新しい評価体制の構築を求めた宣言を行った。日本発の新しい医薬品・医療機器、再生医療を生み出し、「医療イノベーション」を起こすことを目標とした内閣官房医療イノベーション推進室では、岡野光夫は室長代行を務めている。

本研究領域終了以後特許出願件数は急増しており、国内出願 23 件、そのうち 6 件は海外

¹⁴ 培養装置を臨床(医療産業)で応用するには、各システムが統合された形としての製造設備(ファクトリー)として検討する必要があることから、FIRST では各工程システムが一貫した製造プロセスの一部として成立するために工程間を接続するインターフェースや品質管理のためのソフトウェア(生産スケジュール管理、原材料・資材・中間品管理、無菌環境維持管理、衛生管理、培養環境監視、等)を並行して開発することで、GMP(医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準)に適合した細胞加工製品製造を実現する“組織ファクトリー”の開発を行っている。[http://twins.twmu.ac.jp/first/soshiki.html]。

¹⁵ 日経産業新聞 2010 年 6 月 20 日付記事

¹⁶ FIRST ホームページ

¹⁷ 日本経済新聞 2012 年 7 月 6 日付記事など

にも申請している。このほど、低コスト、安全・安定的に製造できる細胞培養自動化装置のプラットフォームとなる基本特許「細胞培養処理システム及び細胞培養システムのモジュール接続方法」が日本国内で成立した¹⁸。各国への国際出願もされており、権利化されたときの産業創生と国際競争力に及ぼす経済効果は大きいと思われる。

本技術の再生医療の将来へのインパクトは報道でも大きく取り上げられており、NHKの番組プロフェッショナル仕事の流儀「夢の医療に挑むー再生医療 岡野光夫」(2011年1月10日)が放送され視聴者への有効な情報提供となった。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Nagase K, Kobayashi J, Kikuchi A, Akiyama Y, Kanazawa H, Okano T, "Effects of graft densities and chain lengths on separation of bioactive compounds by nanolayered thermoresponsive Polymer brush surfaces", *Langmuir*, 24, 511-517, (2008)
- 2) Matsuura K, Honda A, Nagai T, Fukushima N, Iwanaga K, Tokunaga M, Shimizu T, Okano T, Kasanuki H, Hagiwara N, Komuro I, "Transplantation of cardiac progenitor cells ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction in mice", *Journal of Clinical Investigation*, 119, 2204-2217, (2009)
- 3) Tang Z, Akiyama Y, Yamato M, Okano T, "Comb-type grafted poly(N-isopropylacrylamide) gel modified surfaces for rapid detachment of cell sheet", *Biomaterials*, 31, 7435-7443, (2010)
- 4) Hoashi T, Matsumiya G, Miyagawa S, Ichikawa H, Ueno T, Ono M, Saito A, Shimizu T, Okano T, Kawaguchi N, Matsuura N, Sawa Y, "Skeletal myoblast sheet transplantation improves the diastolic function of a pressure-overloaded right heart", *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 138, 460-467, (2009)

④ その他

岡野光夫は、2009年、紫綬褒章、文部科学大臣表彰・科学技術賞、第9回山崎貞一賞などを受賞している。また、現在、日本再生医療学会理事長を務めている。

¹⁸ 特許番号：5051677号 [FIRSTの2012年8月27日付ニュースリリース]

3.1.4 生体分子間相互作用を連続的に検出するための多機能型水晶発振子マルチセンサの設計と開発(岡畑恵雄)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

ナノグラムレベルの重量変化の連続測定が可能な高感度水晶発振子マイクロバランスの開発と、生体内の分子間相互作用や酵素反応などの動的な解析という2つのテーマを設定した。

② 期間中の研究成果

高感度な水晶発振子マイクロバランスの開発ではS/N比の向上に成功し、セルの微小化と併せて約20倍の高感度化を達成した¹⁾。これによって10ngレベルの重量変化の測定が可能となり、タンパク質レセプターへの低分子シグナル分子の結合が測定出来るようになった。さらに、水晶のカット角の改良によって温度依存性を大幅に改良し可搬型の測定器を開発して実証段階に入っている。分子間相互作用や反応の動的な解析では酵素反応を中心に解析が進んだ。従来測定出来なかったDNA、糖鎖、タンパク質、リボソームでの反応過程の動的な解析に成功した²⁾。また、周波数をスキャンすることによって共振周波数のピーク形状の違いに注目し、ピーク幅が物質の粘弾性に関係があることから分子のコンフォメーション変化を追跡出来ることを見出した³⁾。このように水晶発振子に吸着・結合したものの微小な重量変化を連続的に測定することが可能になり従来測定出来なかった反応過程などの動的な解析が可能になった。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Nishino H, Nihira T, Mori T, Okahata Y,
"Direct Monitoring of Enzymatic Glucan Hydrolysis on a 27-MHz Quartz-Crystal Microbalance",
Journal of the American Chemical Society, 126, 2264-2265, (2004)
- 2) Matsuno H, Furusawa H, Okahata Y,
"Kinetic studies of DNA cleavage reactions catalyzed by an ATP-dependent deoxyribonuclease on a 27-MHz quartz-crystal microbalance",
Biochemistry, 44, 2262-2270, (2005)
- 3) Ozeki T, Morita M, Yoshimine H, Furusawa H, Okahata Y,
"Hydration and energy dissipation measurements of biomolecules on a piezoelectric quartz oscillator by admittance analyses",
Analytical Chemistry, 79, 79-88, (2007)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

科研費基盤研究(S)「転写翻訳反応のQCM法による時空間的解析」(2010-2015年度)を獲得し研究を推進している。ポリメラーゼによるDNAからRNAへの転写、タンパク質への翻訳

の過程は今まではゲル電気泳動などで定性的に解析されてきたが、ここでは定量的・速度論的な研究を行っている。

① 科学技術の進歩への貢献

タンパク質の翻訳反応をリアルタイムで質量変化として追跡することが出来る高感度水晶発振子マイクロバランスは、タンパク質の物理吸着と分解反応、タンパク質間相互作用、プリオンタンパクや β -アミロイドタンパクの自己凝集、抗原抗体反応の測定、ペロ毒素の作用機構、ポリメラーゼによる DNA の一塩基伸長、糖鎖伸長酵素による一糖の伸長などの酵素反応の解析などに実際に応用されている。また、水中での測定が可能になってからは DNA 二本鎖のハイブリダイゼーション、DNA 鎖への転写因子の結合、糖鎖単分子膜へのレクチンの結合、膜タンパク質へのゲスト分子の結合などの測定にも成功した。その他、グラム陰性菌膜成分と薬剤の結合など³⁾、応用範囲は広い。

② 社会・経済的波及効果

水晶発振子マイクロバランス (QCM) の基礎が本研究領域において確立され、最初の装置「AFFINIX Q」が開発された。更に AFFINIX シリーズとして改良が加えられ、「AFFINIX QN」、「AFFINIX Q4」、「AFFINIX QN μ 」が続々と製品化され、2010 年には固定化分子の形状変化等の物性変化や流体の粘弾性も計測できる「AFFINIX QN Pro」が発売された。これらの測定装置は理研、NIH、国立癌研究所、大阪大学、九州大学などライフサイエンスや医薬の多くの研究機関で採用され研究に供されている。タンパクの凝集など今まで解析が難しかった現象の解明がすすめばアルツハイマーなど難病の発症機構の解明や治療法の開発につながる可能性もあり、ナノレベルの新しい計測法として期待される。開発した高周波水晶発振子を活用し特許権などの権利を確保するため、東京工業大学発の大学ベンチャーとして株式会社イニシウムを 1999 年に設立し、装置の製造と販売を行ってきた。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Mori T, Toyoda M, Ohtsuka T, Okahata Y,
"Kinetic analyses for bindings of concanavalin A to dispersed and condensed mannose surfaces on a quartz crystal microbalance",
Analytical Biochemistry, 395, 211-216, (2009)
- 2) Takahashi S, Iida M, Furusawa H, Shimizu Y, Ueda T, Okahata Y,
"Real-time monitoring of cell-free translation on a quartz-crystal microbalance",
Journal of the American Chemical Society, 131, 9326-9332, (2009)
- 3) Mori, T, Ohtsuka T, Okahata Y,
"Kinetic analyses of bindings of shiga-like toxin to clustered and dispersed Gb 3 glyco-arrays on a quartz-crystal microbalance",
Langmuir, 26, 14118-14125, (2010)
- 4) Hoshino Y, Kodama T, Okahata Y, Shea K J,
"Peptide imprinted polymer nanoparticles: A plastic antibody",

Journal of the American Chemical Society, 130, 15242-15243, (2008)

④ その他

岡畑は2010年、手島記念研究論文賞を受賞した。

3.1.5 遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製(片岡一則)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

天然ウイルスの機能と構造を学ぶことにより遺伝子を内包する高分子ミセル型と多機能性エンベロープ型の二種類のナノ構造デバイスを創製し、ウイルス性遺伝子ベクターに代わる安全かつ高機能な人工遺伝子ベクターとして「インテリジェント・ナノ構造デバイス」の構築プロセスの確立を目指した。

② 期間中の研究成果

ブロック共重合体のポリカチオンとして、ポリアスパラギン酸の側鎖にジエチレントリアミンを導入することによって、低毒性で極めて遺伝子発現効率の高い高分子ミセル型ナノ構造デバイスの創製に成功した²⁾。更にこれを用いてマウス頭頂骨の欠損モデルにおいて新生骨の形成に成功するなどの成果を上げた。

多機能型エンベロープ型ナノ構造デバイス(MEND)においては MEND の表面に細胞透過性ペプチドであるアルギニン 8 量体(R8)を導入することによって、目標とするアデノウイルスに匹敵する高い遺伝子導入効率を達成するなどの成果を上げた。また、細胞内に導入後の DNA の挙動を観察することにも成功し DNA を核内に導入するだけでは発現が困難であることなどを明らかにした。

ナノ構造デバイスのための高分子設計においては、ブロック共重合技術をベースにして、センシング→プロセッシング→エフェクター活性という一連の動作を的確に行うナノデバイスのための高分子を作成した。生体適合性が高い PEG の片末端に目的細胞表面レセプターを認識するリガンドを導入し、細胞内の pH や還元性雰囲気に応答して DNA や RNA をリリースすることによって、天然型のアンチセンス DNA より高い遺伝子発現機能を有する高分子の合成に成功した³⁾。インテリジェント人工核酸の創製では目的とするシトシンにクロスリンクして特異的に発現を阻害する反応性ヌクレオシドや、安定な 3 本鎖を形成してアンチジーン効果を示す人工核酸、核酸に反応性のニトロシル基を組み込むことによってシトシンをチミジンに変換する人工核酸の合成等に成功した⁴⁾。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Nishiyama N, Iriyama A, Jang W D, Miyata K, Itaka K, Inoue Y, Takahashi H, Yanagi Y, Tamaki Y, Koyama H, Kataoka K,
"Light-induced gene transfer from packaged DNA enveloped in a dendrimeric photosensitizer",
Nature materials, 4, 934-941, (2005)
- 2) Hatakeyama H, Akita H, Kogure K, Oishi M, Nagasaki Y, Kihira Y, Ueno M, Kobayashi H, Kikuchi H, Harashima H,
"Development of a novel systemic gene delivery system for cancer therapy with a tumor-specific cleavable PEG-lipid",

- Gene Therapy*, 14, 68-77, (2007)
- 3) Oishi M, Hayashi H, Iijima M, Nagasaki Y,
"Endosomal release and intracellular delivery of anticancer drugs using
pH-sensitive PEGylated nanogels",
Journal of Materials Chemistry, 17, 3720-3725, (2007)
- 4) Ali Md.M, Oishi M, Nagatsugi F, Mori K, Nagasaki Y, Kataoka K, Sasaki S,
"Intracellular inducible alkylation system that exhibits antisense effects
with greater potency and selectivity than the natural oligonucleotide",
Angewandte Chemie - International Edition, 45, 3136-3140, (2006)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

2006年から2011年まで、CREST研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括：堀池靖浩)研究課題「遺伝子治療実用化のための超分子ナノデバイス製造技術の創成」において、後継のデバイスの製造技術の確立をめざした研究が行われた。この研究課題には、本研究領域の基盤技術グループに加え、民間企業からなる実用的技術開発グループと国立がん研究センター、国立循環器病研究センター、東京大学大学院医学系研究科からなる臨床展開グループが参加し、医療分野での本格的実用化を目指した研究が展開された。

2009年にはFIRSTに選定され、「ナノバイオテクノロジーが先導する診断・治療イノベーション」をテーマに大型研究を展開している。

① 科学技術の進歩への貢献

上記のCREST研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」研究課題「遺伝子治療実用化のための超分子ナノデバイス製造技術の創成」では以下のような成果が得られた。

- (i) GALA ペプチド修飾 MEND の開発と機能性核酸のデリバリー及びメラノーマ肺転移抑制効果を確認した。
- (ii) PEG-PAsp (DET) 及びそのホモ重合体ミセルに対して大型哺乳類動物を用いた安全性試験を実施し顕著な毒性が見られないことを確認した。
- (iii) PEG-PAsp (DET) とアドレノメデュリン遺伝子から成る高分子ミセルによる肺動脈性肺高血圧治療モデルを作製した。
- (iv) PEG-PAsp (DET) と骨再生誘導遺伝子 (caALK6/Runx2) からなる高分子ミセルを担持した足場材料の生体内留置による骨再生を試みた。

現在、製薬企業による BCG-CWS ワクチン搭載 R8-MEND の実用化プロジェクトが進行中であるほか、PEG-PAsp (DET) 高分子ミセルの GMP 準拠製造試験の開始、環状 RDG ペプチド搭載高分子ミセルの製薬企業への技術移転などが行われている。

多重膜ナノ構造デバイスのプロトタイプの基本構造は、右図に示したように遺伝子治療用ベクターの導入を目的とする多重膜構造となっておりその中に高分子ミセルが含まれる¹⁹。

多重膜ナノ粒子の実用化に向けて、粒子膜構成細分の自己組織化、標的細胞の認識、核内移行、ベクターや人工核酸の機能性遺伝子の合成など、高度にインテリジェントな機能について研究が進められている^{1), 2), 3), 4)}。

一方、早期の臨床応用をめざして、比較的簡単な膜構造を有する各種の高分子ミセルの開発が先行しており、既に抗がん剤を内包する高分子ミセルナノ粒子の2剤が臨床試験に移行している。

- ・NK-105(日本化薬)：乳がんへの代表的な抗がん剤であるパクリタキセルを内包したナノカプセルで、臨床第II層試験を終了し第III層試験へと移行
- ・NC-6004(ナノキャリア)：乳がん、大腸がんなどの抗がん剤シスプラチンを内包した粒子径30nmの微小なナノカプセルで、すい臓がんなどが対象

これらの臨床試験は日本以外にも英国、台湾、シンガポールなど海外各国でも行われている²⁰。このほか、糖尿病を対象とするインシュリン制御放出剤が試作され、有効性の試験に供されている。

② 社会・経済的波及効果

難病やがんなど治療が困難な疾病に対して安全かつ有効な治療法を開発することは喫緊の課題となっている。これらの難病に対する治療法として将来性が希求されているものの一つにDDSによる遺伝子治療がある。本DDS技術はがん、循環器疾患、運動器疾患など応用範囲は広く、医工の連携をとりながら独自のアイデアと最新のナノ研究技術を駆使して研究を進め、実用化を視野に入れた開発段階へと進みつつある。

開発の最終目標となるDDSは生体の防御網をかいくぐって標的細胞やその核内にsiRNAなどの治療用人工遺伝子や治療用タンパク(ワクチン)を運び込むことができる多重膜エンベロープDDS(MEND)であり、現在、動物試験用の試作段階にきている。

一方、既に実用化段階に入っている比較的簡略な構造をもつ高分子ミセルは標的がん細胞へのターゲティングによる薬剤効率のアップと治療効果の向上に加え副作用の軽減が期待される。更には、優れた効果を有するにも拘らず副作用や毒性があるため使えなかった薬物化合物の活用が、本材料を用いたDDSによって可能となるなど、創薬の面からも期待されている。

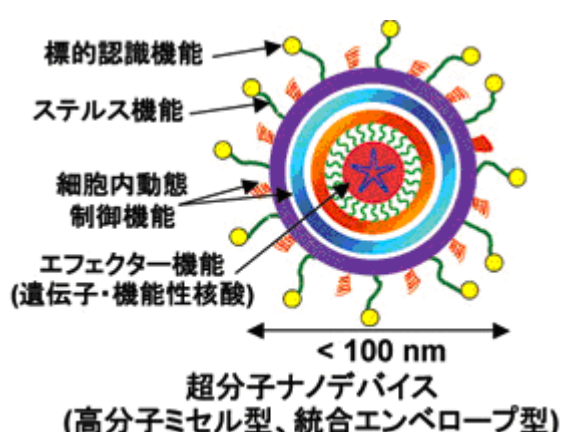


図 3-5 超分子ナノデバイス

¹⁹ http://www.nmt.jst.go.jp/themes/h18/fig_kataoka.html より転載

²⁰ 日経産業新聞 2012年7月4日付記事など

これらのミセル化ナノ粒子技術による医薬品の開発を目的としてナノキャリア株式会社が1996年に設立された。同社は本技術に関する基本特許並びに応用特許を保有し、内外の企業に対してライセンスを許諾しながら共同して臨床試験などを実施し製品の開発を進めている。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Takae S, Miyata K, Oba M, Ishii T, Nishiyama N, Itaka K, Yamasaki Y, Koyama H, Kataoka K,
"PEG-detachable polyplex micelles based on disulfide-linked block cationomers as bioresponsive nonviral gene vectors",
Journal of the American Chemical Society, 130, 6001-6009, (2008)
- 2) Bae Y, Kataoka K,
"Intelligent polymeric micelles from functional poly(ethylene glycol)-poly(amino acid) block copolymers",
Advanced Drug Delivery Reviews, 61, 768-784, (2009)
- 3) Kano M R, Bae Y, Iwata C, Morishita Y, Yashiro M, Oka M, Fujii T, Komuro A, Kiyono K, Kaminishi M, Hirakawa K, Ouchi Y, Nishiyama N, Kataoka K, Miyazono K,
"Improvement of cancer-targeting therapy, using nanocarriers for intractable solid tumors by inhibition of TGF- β signaling",
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104, 3460-3465, (2007)
- 4) Matsumoto S, Christie R J, Nishiyama N, Miyata K, Ishii A, Oba M, Koyama H, Yamasaki Y, Kataoka K,
"Environment-responsive block copolymer micelles with a disulfide cross-linked core for enhanced siRNA delivery",
Biomacromolecules, 10, 119-127, (2009)

④ その他

本研究領域終了後、片岡は江崎玲於奈賞(2012年)、フンボルト賞(2012年)、文部科学大臣表彰科学技術賞(2010年)、NIMS Award(2009年)等数多くの賞を受賞している。

3.1.6 ナノクラスターポリ酸を用いた分子機械の構築(山瀬利博)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

金属の d 電子の物理化学的性質に着目した金属酸化物クラスター(ポリ酸)について次のような取り組みを行った。

- ・分子全体を構成するブロック分子とブロック間を接続するリンカー(ボルト)の開発と分子デザインおよび新規合成化学の展開
- ・ブロックの集合化のメカニズムと集合化に伴う新規物性の発現と物性変化の測定
- ・新規生物作用の発見と機構の解明および新規無機医薬の開発

② 期間中の研究成果

新規合成化学の分野では、基本ブロックとリンカーを組み合わせて光反応によってスーパーナノサイズの新規リング、チューブ、チェーン構造の Mo ブルーナノスーパーポリ酸の合成に成功した²⁾。これらの光自己集合反応の過程を時間分解 ESR により解析し、そのメカニズムを明らかにするとともに Cu₆¹²⁺, Mn₆¹²⁺スピנקラスターを含む三角、四角、六角のポリ酸が新規の分子磁石であることを見出すなど一連のポリ酸分子磁性体を発見した¹⁾。更にこれらの新規ナノリングポリ酸分子やファイバーポリ酸分子の構造を放射光による X 線構造回折により明らかにした。

ポリ酸の生理活性に関する研究からは抗ウイルス、抗 MRSA、抗腫瘍などの活性を示すものを見出した。特に、{Mo₁₆} はアポトーシスとオートファジーの両プロセスによる細胞死を誘導しヒトすい臓がんに対して優れた増殖抑制作用を示した。

このように、無機医薬の候補化合物としてポリ酸の応用範囲の広さを示すとともに今後の展開の可能性が示された³⁾。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Yamase T, Fukaya K, Nojiri H, Ohshima Y,
"Ferromagnetic exchange interactions for Cu₆ 12+ and Mn₆ 12+ hexagons sandwiched by two B- α -[XW 9033]9- (X = As III and Sb III) ligands in D3d-symmetric polyoxotungstates",
Inorganic Chemistry, 45, 7698-7704, (2006)
- 2) Yamase T, Yano Y, Ishikawa E,
"Photoreductive self-assembly from [Mo₇₀₂₄]6- to carboxylates-coordinated {Mo₁₄₂} mo-blue nanoring in the presence of carboxylic acids",
Langmuir, 21, 7823-7832, (2005)
- 3) Yamase T,
"Anti-tumor, -viral, and -bacterial activities of polyoxometalates for realizing an inorganic drug",
Journal of Materials Chemistry, 15, 4773-4782, (2005)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

科研費特別研究推進「量子ヒステリシスを示すポリ酸ナノ磁性体の開発と分子磁性」(2005～2007 年度；研究代表者：山瀬利博)を獲得し量子/古典の境界領域のナノスピクラスターの分子磁性の理解のため non-collinear(三角、四角、六角、プリズム)スピン構造のポリ酸を創製し、その(光)自己集合機構および分子磁性の解明を行った²¹。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、ポリ酸の自己集合化の発見に基づいて多種多様なナノクラスターポリ酸を分子設計・合成し、結晶構造解析を重ねることにより特異な磁気特性などを明らかにした。この間の成果として以下のようなものがある。

- ・ Non-collinear なスピン構造(三角、四角、六角、プリズム、ボール、リング)をもつ多数の新規ポリ酸の創製に成功
- ・ ポリ酸の光反応による種々のナノ構造体の自己集合反応メカニズムを時間分解 ESR 分光法を用いて解明

現在の研究テーマは以下の項目である。

- ・ ナノリング、ナノチューブ、ナノチェーン構造のモリブデンポリ酸の光合成の発見
- ・ 希土類金属イオンによるリング形状のデザイン化の発見
- ・ 新規分子磁石としての三角、四角、六角スピンを内包したポリ酸の発見

② 社会・経済的波及効果

金属酸化物クラスターイオンであるポリからナノリング、ナノチューブ、ナノチェーン、ナノクラウンなどの形状の分子機械あるいは分子素子の構築が可能で、電子素子、非線形光学材料、光触媒、発光素子、分子磁石などへの応用が考えられる^{2),3)}。ポリ酸が光化学的にナノサイズのスーパーポリ酸へと自己集合化して様々な形状をとり、分子素子として各種の機能材料になりうることは、通常の化学反応より低いエネルギーレベルで製造でき環境負荷も少ないことを意味しており産業と社会の方向として望ましいといえる。

金属錯体ポリ酸の生理活性が見出されており副作用の少ない無機系薬剤として医療に貢献する可能性がある。例えば本研究領域終了後の論文の一つにモリブデン酸化物のポリ酸が、大腸がん、肺がん、乳がん、胃がんなどに優れた増殖抑制作用を示したものがある。その作用機構はアポトーシスの誘導による DNA の裁断であり、特に PM-17 は治療薬自体が少ないすい臓がんに対して優れた効果を示したことについて言及している。また、タングステン酸化物のポリ酸やバナジウム酸化物のポリ酸が、インフルエンザウイルス A 型などに強い抗ウイルス作用を示すことがマウスの試験で確認され、副作用の少ない無機系の薬剤としての可能性が報告された¹⁾ほか、抗菌、抗ウイルス用タオルに応用され、東京工業大学と慶應義塾大学が共同で設立した大学発ベンチャー企業で、山瀬利博もアドバイザーとして関わっているパイオニアスピリット有限会社と、レンタルおしぼり大手の株式会社藤波タオルサービスを通じて、開発・レンタル・販売が行われている(2012 年 2 月 16 日、

²¹ http://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/25_tokusui/data/jigo_shiryo_21/jigo09_yamase.pdf

日刊工業新聞)。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Ogata A, Yanagie H, Ishikawa E, Morishita Y, Mitsui S, Yamashita A, Hasumi K, Takamoto S, Yamase T, Eriguchi M,
"Antitumour effect of polyoxomolybdates: Induction of apoptotic cell death and autophagy in in vitro and in vivo models",
British Journal of Cancer, 98, 399-409, (2008)
- 2) Yamase T, Abe H, Ishikawa E, Nojiri H, Ohshima Y
"Structure and magnetism of $[n\text{-BuNH}_3]_{12}[\text{Cu}_4(\text{GeW}_9\text{O}_{34})_2] \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ sandwiching a rhomblike Cu_4^{4+} tetragon through α -keggin linkage",
Inorganic Chemistry, 48, 138-148, (2009)
- 3) Yamase T, Kumagai S, Prokop P, Ishikawa E, Tomsa A.-R,
" $\{\text{Mo}_{96}\text{La}_8\}$ Eggshell Ring and Self-Assembly to $\{\text{Mo}_{132}\}$ Keplerate through Mo-blue Intermediate, Involved in UV-Photolysis of $[\text{Mo}_7\text{O}_{24}]_6^-/\text{Carboxylic Acid System}$ at pH 4" , *Inorg. Chem.*, 49, 9426-9437, (2010)
- 4) Yamase T, Ishikawa H, Abe H, Fukaya K, Nojiri H, Takeuchi H,
"Molecular Magnetism of M_6 -Hexagon Ring in D_{3d} -Symmetric $[(\text{MCl})_6(\text{XW}_9\text{O}_{33})_2]^{12-}$ ($\text{M}=\text{Cu}^{\text{II}}$ and Mn^{II} , $\text{X}=\text{Sb}^{\text{III}}$ and As^{III})" , *Inorg. Chem.*, 51, 4605-4619, (2012)

3.2 2002年度採択課題

3.2.1 ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発(明石満)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

明石満らが見出したナノ粒子による免疫誘導技術²²を発展させて HIV、HTLV-1(成人 T 細胞白血病ウイルス)などに対する抗レトロウイルスワクチンの開発を目指した。

② 期間中の研究成果

ナノ粒子の母体をなす高分子をポリスチレンから生分解性高分子であるポリ(γ-グルタミン酸)を用い、生分解性を確保しながら、抗原タンパクの表面への固定化と内包を可能とした。in vitro、in vivo のいずれにおいても液性免疫・細胞性免疫を誘導することに成功した^{1),2)}。このナノ粒子は、その当時最も優れた特性を示していたフロイント完全アジュバント(CFA)を凌ぐアジュバンド効果を示し強い CTL 誘導能を有することが報告された³⁾。

抗エイズウイルスワクチンは、エイズウイルスの表面タンパクである gp120 に対する免疫を効率的に発現させることが判明し、また、インフルエンザやがんのワクチンの可能性を示すデータも得られた。

企業、大学、その他の研究機関などから共同研究の提案が多く寄せられた。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Akagi T, Wang X, Uto T, Baba M, Akashi M,
"Protein direct delivery to dendritic cells using nanoparticles based on amphiphilic poly(amino acid) derivatives",
Biomaterials, 28, 3427-3436, (2007)
- 2) Uto T, Wang X, Sato K, Haraguchi M, Akagi T, Akashi M, Baba M
"Targeting of antigen to dendritic cells with poly(γ-glutamic acid) nanoparticles induces antigen-specific humoral and cellular immunity",
Journal of Immunology, 178, 2979-2986, (2007)
- 3) Wang, X., Uto, T., Akagi, T., Akashi, M., Baba, M.
"Induction of potent CD8+ T-cell responses by novel biodegradable nanoparticles carrying human immunodeficiency virus type 1 gp120"
Journal of Virology, 81, 10009-10016, (2007)

²² 高分子の自己組織化を利用して調製したコア-コロナ型ポリスチレンナノ粒子に不活化した「ヒト免疫不全ウイルス」(HIV)を捕捉したものをマウスの粘膜に接種することによって免疫を誘導するというもの

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域で創製されたナノ粒子(疎水化 γ -PGA NPs)を基盤とするワクチンやDDSの開発をめざして、2007年よりCREST研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括堀池靖浩)研究課題「免疫制御能を有する高分子ナノ粒子ワクチンの製造」を実施した。

また、ワクチン以外の用途として科研費による基盤研究(S)「高分子の自己集合を用いる機能材料の創製と生医学領域への応用」(2011-2015年度)を実施している。この研究は明石グループが見出した“弱い高分子間の相互作用を利用した高分子の自己集合による交互集積法(LbL法)”を用いて、ポリ(γ -グルタミン酸)、ゼラチン、多糖類、ポリ乳酸など生体適合性の素材からの薄膜や三次元細胞組織を構築するための高分子バイオマテリアル創製技術を確立し、再生医療への応用を目指したものである。その中で生体適合性の素材の薄膜に関する研究は、科研費基盤研究(A)「交互集積法を用いる高分子超薄膜ナノマテリアルの創製に関する研究」(2011年度-)でも並行して行われている。

① 科学技術の進歩への貢献

CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」(研究総括：堀池靖浩)研究課題「免疫制御能を有する高分子ナノ粒子ワクチンの製造」では、疎水化 γ -PGA ナノ粒子の実用的製造技術について粒径制御され且つ生理条件で安定なナノ粒子の製造方法を検討している。さらに、ナノ粒子ワクチンの臨床応用に向けてGMPに準拠した製造を行うための最適化を検討し、高効率・高再現性のナノ粒子の大量製造技術を確立した。また、製剤化プロセスを構築し安全性評価のための試用サンプルを製造した。安全性についてもがん抗原ペプチドをナノ粒子表面に固定化したワクチンについてラットを用いた14日間反復投与毒性試験およびモルモットを用いた抗原性試験を実施しいずれにおいても安全性に問題がないことが確認された。

最終的には、肝がん・大腸がん患者に対するナノ粒子ワクチンのトランスレーショナルリサーチを実施しナノ粒子アジュバントによる新たながん免疫療法の開発を目指している²³。

ナノ粒子ワクチンのメカニズム解析においては、ナノ粒子のアジュバント活性に関連する樹状細胞のシグナルレセプターを明らかにした¹⁾。さらに、マウス免疫実験において、がん抗原ペプチドを用いたナノ粒子ワクチンが肝腫瘍に対する抗腫瘍活性を示し、既存のアジュバントよりも安全な治療法であることを証明した⁴⁾。このほか、インフルエンザワクチンへの応用³⁾、アレルギーワクチン²⁾など各種の用途への検討が進められている。

本研究領域終了後の論文発表は127報と多数に及んだ。

② 社会・経済的波及効果

本研究領域で開発した疎水化 γ -PGA ナノ粒子は、各種抗原タンパクやペプチドに対して強力な細胞障害性T細胞(CTL)を誘導することができ、有効性と安全性を兼ね備えたワクチンの開発につながることを期待される。世界中ですでに進められている種々の免疫疾患に

²³ CREST HP 実績報告書など

対する抗原探索研究と組み合わせたワクチンの創製と実用化が実現すれば感染症以外の疾患に対してもワクチン療法が可能となり、医療或いは医療経済への波及効果は大きい。

本技術のワクチンへの応用については企業からの関心も高い。ナノ粒子ワクチンの実用化を目指し、大阪大学と武田薬品工業株式会社との共同研究講座が2012年より実施されている²⁴。この中では、ナノ粒子の優れた免疫誘導効果を利用した次世代ワクチンの開発を進めており、企業のノウハウをいれて臨床展開に向けた製造技術、製剤化技術、ワクチン評価などの産学共同研究が行われる²⁵。

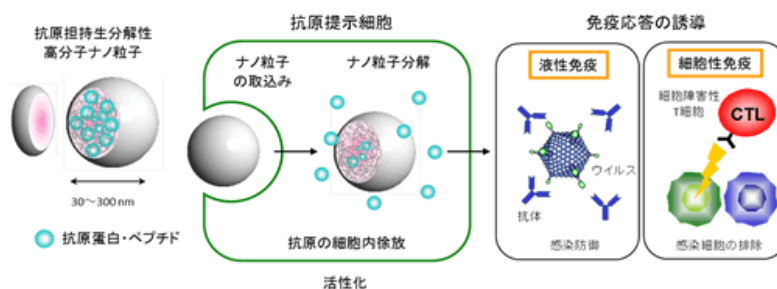


図 3-6 ナノ粒子ワクチンのコンセプト²⁶

ワクチン以外にも生体適合性に優れる疎水化 γ -PGAナノ粒子はDDSやバイオ製品の素材として様々な応用が検討され、大学や企業との共同研究が行われている。東北大学の中沢徹教授(医学系研究科眼科学)との共同研究では、ステロイド含有ナノ粒子を用いた網膜疾患に対する治療効果を確認した²⁷。

本研究領域に参画(研究員)していた松崎典弥(現大阪大学助教)らは NEDO の産業技術研究助成事業「テーラーメイド型 3 次元複合組織の生体外構築を可能とする細胞積層化技術の開発」(2006 年度)において、細胞と細胞外マトリックス成分のナノ薄膜を接着させることによって、通常平面(2 次元)にしか培養できない細胞層を積層化する技術を開発した。この技術を共同研究先の住友ベークライト株式会社に技術移転し、同社は細胞積層培養キット CellFeuille(セルフィーユ)として製品化した。ヒト血管内皮細胞、腸管上皮細胞、結腸癌や肝がん細胞などの組織として積層培養できることから今後再生医療や創薬研究のツールとして期待される²⁸。

²⁴ http://www.takeda.co.jp/press/article_48463.html

²⁵ <http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/>

²⁶ 明石研究室 HP

²⁷ <http://www.med.tohoku.ac.jp/uploads/100111op2.pdf>, 日本経済新聞 2011/01/31、[J. Controlled Release, 2011]

²⁸ NEDO プレスリリース 2009 年 3 月 10 日 : http://www.nedo.go.jp/news/press/AA5_0134A.html

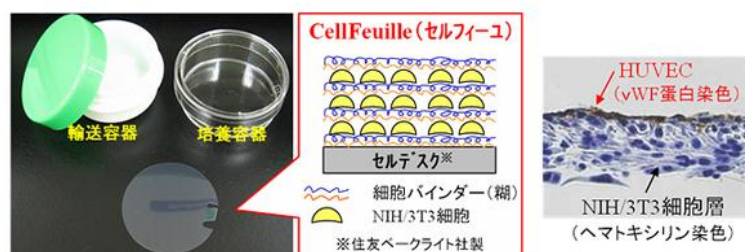


図 3-7 CellFeuille3T3(左)とその上で 2 週間培養したヒト血管内皮細胞(右)²⁹

さらにこの技術をベースに繊維芽細胞の積層構造の上に皮膚細胞や血管・リンパ管細胞をつけて組織に培養する技術を開発し、化粧品や医薬品を開発する際に必要な動物試験にかわる評価系として企業と共同での製品化を進めている³⁰。

本研究領域終了後の特許出願数は国内出願 19 件、海外出願 8 件と本研究領域研究期間中より大幅に伸びている。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Uto T, Akagi T, Yoshinaga K, Toyama M, Akashi M, Baba M, “The induction of innate and adaptive immunity by biodegradable poly(γ -glutamic acid) nanoparticles via a TLR4 and MyD88 signaling pathway.” , *Biomaterials*, 32, 5206–5212, (2011)
- 2) Broos S, Lundberg K, Akagi T, Kadowaki K, Akashi M, Greiff L, Borrebaeck C. A. K., Lindstedt M, “Immunomodulatory nanoparticles as adjuvants and allergen-delivery system to human dendritic cells: Implications for specific immunotherapy.” , *Vaccine*, 28, 5075–5085, (2010)
- 3) Okamoto S, Matsuura M, Akagi T, Akashi M, Tanimoto T, Ishikawa T, Takahashi M, Yamanishi K, Mori Y, “Poly(γ -glutamic acid) nano-particles combined with mucosal influenza virus hemagglutinin vaccine protects against influenza virus infection in mice.”, *Vaccine*, 27, 5896–5905, (2009)
- 4) Yamaguchi S, Tatsumi T, Takehara T, Sasakawa A, Yamamoto M, Kohga K, Miyagi T, Kanto T, Hiramastu N, Akagi T, Akashi M, Hayashi N “EphA2-derived peptide vaccine with amphiphilic poly(γ -glutamic acid) nanoparticles elicits an anti-tumor effect against mouse liver tumor.”, *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 59, 759–767, (2010)

④ その他

受賞：日刊工業新聞社ものづくり連携大賞特別賞(2009年)

²⁹ NEDO プレスリリース 2009年3月10日：http://www.nedo.go.jp/news/press/AA5_0134A.html

³⁰ 日本経済新聞 2011年5月23日

国際交流: (独) 日本学術振興会 二国間交流事業共同研究(日英)「三次元ヒト胎盤組織モデルの構築とナノ粒子毒性評価システムへの応用」の実施(2012～2013 年度)

3.2.2 ナノ生物物理化学アーキテクチャの構築と応用(北森武彦)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

ナノとマイクロの中間領域(10-100nm スケール)を“拡張ナノ空間”と名付け、その空間における流体の特性や構造を解明して“拡張ナノ空間”の応用のためのアーキテクチャとそれらに基づく高機能デバイスの構築を目指した。

② 期間中の研究成果

北森グループが既に確立していた石英上に 20nm のチャンネルを作成するなどの微細加工技術を応用して作成した拡張ナノ空間 NMR セルを用いて、生体の基本的な溶媒である水の構造や運動性について解析を行い、ナノ-拡張ナノ空間においては、水の分子構造は変わらないが運動性やプロトン交換速度は大きく変化することなど、従来のバルクの流体力学をそのまま適用出来ないことを明らかにした²⁾。また、移動距離だけで予測されるものよりも物質移動速度が速くなることなど“拡張ナノ空間”固有の現象の解明を進めた。“拡張ナノ空間”における化学反応についても検討し、500nm 以下の空間ではケト-エノール反応平衡がエントロピー減少の方向へずれることなどの非常に興味深い現象を確認した。

一方、ナノ拡張空間において細胞を機能素子として分析に用いるため細胞培養についても検討し、例えば、ナノ・ストライプパターン制御により細胞の接着や配向性の制御が可能であることを見出した。

この他、東京女子医科大学・岡野との共同研究によって、疑似心臓デバイスや疑似血管デバイスのプロトタイプ作製にも成功した¹⁾。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Tanaka Y, Sato K, Shimizu T, Yamato M, Okano T, Kitamori T
“A micro-spherical heart pump powered by cultured cardiomyocytes”,
Lab on a Chip, 7, 207-212 (2007) [Research highlight in *Scientific American*, vol. 4, C1 (2007)]
Tanaka Y, Morishima K, Shimizu T, Kikuchi A, Yamato M, Okano T, Kitamori T,
“An actuated pump on-chip powered by cultured cardiomyocytes”,
Lab on a Chip, 6, 362-368, (2006) [Cover in *Lab. Chip*, and Research Highlights in *Nature* 440, 258, (2006)]
- 2) Tsukahara T, Hibara A, Ikeda Y, Kitamori T,
“NMR study of water molecules confined in extended nanospaces”
Angewandte Chemie – International Edition, 46, 1180-1183, (2007) (Highlighted in the inside cover).
- 3) Hiki S, Mawatari K, Hibara A, Tokeshi M, Kitamori T,
“UV excitation thermal lens microscope for sensitive and nonlabeled detection

of nonfluorescent molecules”

Analytical Chemistry, 78, 2859–2863, (2006)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の研究成果をさらに発展させるため、新たに CREST 研究領域「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」(研究総括：曾根純一)研究課題「拡張ナノ空間特異性を利用した革新的機能デバイスの創成」を 2009 年より推進している。また、科研費基盤研究(A)「マイクロ化学を用いた単一細胞内単一 DNA 分子分析法の開発」(2008～2009 年度)および科研費特別推進研究「拡張ナノ空間流体力学の創成」(2010～2012 年度)を実施している。この他、2008 年度から、日本学術振興会・先端研究拠点事業の「最先端マイクロ・ナノ化学研究拠点」機関として採択され、国際連携を推進している。

① 科学技術の進歩への貢献

CREST 研究領域「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」研究課題「拡張ナノ空間特異性を利用した革新的機能デバイスの創成」では、界面領域のみで形成される拡張ナノ空間の特異性を活用した新しいデバイス工学を作り上げることを目標に掲げている。単一細胞、単一分子インターフェースの開発あるいは極微量インジェクション法の開発とカラム分離への応用など、デバイス創製のために必要となる新規な操作法を検討しマイクロチャンネルの形態や操作方法などについての基本技術を確認している。極微量インジェクション法の開発では従来の HPLC より 11 桁少ない極少量試料のインジェクションと成分分離に成功し、10 倍以上の高い分離効率を達成した。今後、様々な物質の分離に応用展開する予定である³¹。

この他、光化学を応用したナノパターン技術の改良、細胞パターンニング法の開発¹⁾、超高感度熱レンズ顕微鏡の開発および熱レンズ顕微鏡によるアポトーシスの可視化、生体擬似血管デバイスの構築³²、アレルギー物質のマイクロイムノアッセイと簡便装置の実用化²⁾などの研究が進められている。

また、最近の研究では、pH 感受性蛍光プローブを用いたプロトン運動性の直接測定の新しい方法が開発された。この方法を用いた測定結果は二次元拡張ナノスペース流路におけるプロトン運動性の活発化を証明し、ナノ流路内でのイオン輸送過程の理解を深めることに貢献した⁴⁾。この成果を報告した論文は国際誌 *Angewandte Chemie International Edition (ACIE)* の VIP (Very Important Paper) に選出された。

日本学術振興会・先端研究拠点事業の「最先端マイクロ・ナノ化学研究拠点」では、世界的研究拠点であるウプサラ大学 Rudbeck 研究所、南オーストラリア大学 Ian Wark 研究所、IBM ワトソン研究所、スイス連邦工科大学およびシンガポールの南洋工科大学との研究協力体制を構築して、最先端マイクロ・ナノ科学研究の拠点を確立し超微量化による単一生体分子の分析法や表面効果の顕在化による表面化学と流体化学の融合など新たな領域的融合や学際横断的に活躍できる次世代の人材育成を推進している。

³¹ CREST 研究終了報告書

³² 東京大学 北森研究室 HP <http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/kitamori/index.html>

本研究領域終了後の論文数は約 80 報、特許出願件数は、国内出願 10 件、国際出願 4 件である。また、本研究領域研究期間中に申請した特許(24 件)の成立と権利化が進んでいる。

② 社会・経済的波及効果

マイクロチップなど超高密度かつ高機能なバイオ素子・システムの技術は小型分析センサー、小型化学・生物反応容器、マイクロマシンなどとして実用化が確実に進んでいる。その延長上には更なる小型化や最適化による集積度のアップ、あるいは省エネルギー、省資源、低コスト化があって、実用化・普及によって大きな経済的波及効果が期待される。本技術は医療診断・治療技術の開発にもつながり、例えば、心臓病やがん、アレルギー、糖尿病などの疾病を自覚症状の前に超微量化学物質の変化として捉えるセンサーや健康維持のためのモニタリング技術としての応用も考えられ社会的メリットも大きい。

上記項目を含めた実用化研究は、東京大学発バイオベンチャーのマイクロ化学技研(川崎市)と共同で行っているほか企業が参加して細胞 1 個レベルの超微量の試料に含まれるタンパク質でも検出できる小型の検査用マイクロ化学チップの製品開発を進めている。肝臓がんのマーカーAFP やアレルギー物質の検出³³に成功したことから、実用化の試験を行うと共に同様のマイクロ化学チップによる高感度検査を心筋梗塞の発症前に増える CRP タンパクにも適用して検出を試みている。さらに、微小流路を使ったウイルスの捕捉装置も考案しており、ウイルス抗体を固定したチップに検査試料を流して反応させウイルスを検出するチップと、小型で安価な実用的な装置を開発中である³⁴。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Jang K, Sato K, Mawatari K, Konno T, Ishihara K, Kitamori T,
"Surface modification by 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine coupled to a photolabile linker for cell micropatterning",
Biomaterials, 30, 1413-1420, (2009)
- 2) Ohashi T, Mawatari K, Sato K, Tokeshi M, Kitamori T,
"A micro-ELISA system for the rapid and sensitive measurement of total and specific immunoglobuline and clinical application to allergy diagnosis",
Lab on a Chip - Miniaturisation for Chemistry and Biology, 9, 991-995, (2009)
- 3) Tsukahara T, Mawatari K, Hibara A, Kitamori T,
"Development of a pressure-driven nanofluidic control system and its application to an enzymatic reaction",
Analytical and Bioanalytical Chemistry, 391, 2745-2752, (2008)
- 4) Chinen H, Mawatari K, Pihosh Y, Morikawa K, Kazoe Y, Tsukahara T, Kitamori T,
"Enhancement of proton mobility in extended-nanospace channels",
Angewandte Chemie - International Edition, 51, 3573-3577, (2012)

³³ 40nm の微細な流路を刻んだチップに被検タンパクの抗体を固定して細胞 1 個を流路に流し込み、界面活性剤を加えて細胞を破壊して抗体反応を起こさせ特殊なレーザーで検出する。

³⁴ 日経産業新聞 2009 年 7 月 1 日など

④ その他

受賞：日本分析学会学会賞(2009年)、IBM Faculty Award(2008年)
Angewandte Chemie International Edition VIP(2010年)

3.2.3 ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測(鈴木孝治)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

ボトムアップ型の分子・ナノ材料設計をベースにナノケミカルプローブと称する新規なバイオケミカルセンシング用プローブを創製し、単一細胞の内外の現象を統合的に判断する「細胞のリアルタイム測定」と細胞への外的刺激に対する応答(イオン放出等)を検出する「細胞応答観察システム」の基盤技術を確立し単一細胞レベルの動態解析を通じたバイオ・医療計測技術を創製することを目標とした。

② 期間中の研究成果

生体内での金属イオンとして知られているマグネシウムとカルシウムを同時測定出来る蛍光プローブを創製し、細胞内での Mg^{2+} 、 Ca^{2+} の同時測定に成功した³⁵。また、走査型顕微鏡用のプローブとして、①原子間力(物理情報)、②電気化学(電気シグナル情報)、③近接場光(発光情報)を同時に測定出来るマルチモードプローブ及び同システムを開発し、SECM(走査型電気化学)、NSOM(近接場光学)、AFM(原子間力顕微鏡)の同時イメージングに成功した²⁾。さらに、分子量をタグとする新たなマスプローブ(反応性の分子)を創出し、マトリックス(レーザー光を吸収する化合物)なしで、MALDI TOF-MS³⁶が行えることを示すなど、新しい分析手法を開発した[特許第 4649416 号他]³⁾。一方では、微細加工技術を駆使してナノドット基板を作成し、MALDI TOF-MS の再現性の向上や SPR(表面プラズモン共鳴)センサーへの応用などで生体分子の計測に成功するなど、多くの新規分析手法を開発した³⁷。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Niwa O, Jia J, Sato Y, Kato D, Kurita R, Maruyama K, Suzuki K, Hirono S, "Electrochemical performance of angstrom level flat sputtered carbon film consisting of sp² and sp³ mixed bonds", *Journal of the American Chemical Society*, 128, 7144-7145, (2006)
- 2) Ueda A, Niwa O, Maruyama K, Shindo Y, Oka K, Suzuki K, "Neurite imaging of living PC12 cells with scanning electrochemical/near-field optical/atomic force microscopy", *Angewandte Chemie - International Edition*, 46, 8238-8241, (2007)
- 3) Honda A, Suzuki Y, Suzuki K, "Mass probe-assisted ionization method for total analysis of biomolecules with

³⁵ H. Komatsu et al., JACS 117, 10798-10799, 2005

³⁶ Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry, マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析

³⁷ 特許出願「SPRセンサーおよび屈折率測定方法」出願日2004年6月16日、K. Kurihara et al., *Analytica Chimica Acta*, 523, 165-170 (2004)

electrospray ionization-mass spectrometry”,
Chemical Record, 6, 100-106, (2006)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の成果をベースにナノ技術を駆使したバイオ・ケミカルセンシング機能分子およびデバイスの創製を幅広く展開している。科研費基盤(A)「細胞・臓器イメージング用新規化学センシング分子試薬の開発」(2008~2010 年度)および科研費基盤(S)「革新的高輝度近赤外発光プローブの創製と生体内癌イメージングへの応用」(2012~2016 年度)を獲得している。また、神奈川科学技術アカデミーの「ナノフォトバイオグループ」(2007~2008 年度)も NEDO からの委託を受けている。

① 科学技術の進歩への貢献

生体細胞や臓器の蛍光イメージング用プローブの開発では、新たにマルチカラー有機蛍光色素を設計、合成し、単一レーザー光源でもって複数の成分例えば脂質とカルシウムの濃度を同時イメージングすることに成功した。また、臓器の MRI 撮影において、病変部位だけを識別して描出するイメージング造影剤の開発を目指し、心筋梗塞や脳梗塞に関連するアテローム性動脈硬化の血管内皮沈着物の脂溶性ソフトプラークを、新規な合成試薬で高感度に描出することに成功した³⁸。

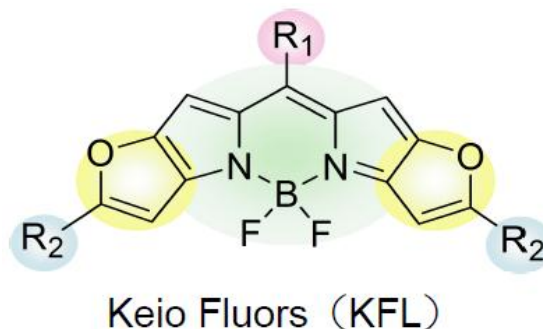


図 3-8 Keio Fluors

この他、ボロンジヒロメテン骨格をもつ新規な高輝度蛍光色素 Keio Fluors (図 3-8) を合成することに成功した。この色素は高輝度で鋭角な吸収波長を持ち、世界最高レベルの優れた光学特性を示した²⁾。最近注目されている可視~近赤外の長波長領域を用いたバイオイメージングへの貢献が期待される。

本研究領域後の発表論文数は 28 報であった。

② 社会・経済的波及効果

鈴木孝治らが取り組んでいる新たな生体内物質の測定法は疾患の診断や治療法の向上に大きく貢献することが期待される。

ケミカルセンサーの開発と実用化ではシックハウス症候群の原因物質ホルムアルデヒドを検出するセンサー装置「ドクターシックハウス(関東化学)」や「FP-30(理研計器)」としてすでに製品化され、特に后者は国内シェア 1 位にランクされ国外への輸出も始まっている³⁹。

また、「ケミカルセンサー」と「バイオセンサー」をキーワードとする慶應義塾大学発ベ

³⁸ 科研費 2009 年度研究実績報告書

³⁹ <http://www.jukushin.com/archives/9741>

ンチャーAISSY 株式会社を設立し、開発した味覚センサーを用いて食品の味成分を測定する事業を展開し、食品、飲料分野の100社以上企業から多くの測定依頼を受けている。このほか、MRIプローブ、運転者の呼気中のアルコールを低温でも感度良く検出するセンサー、インクジェットプリント技術を活かした紙ベースのグローバルヘルスケアセンサーチップの作製など新製品を考案している⁴⁰。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Abe K, Suzuki K, Citterio D,
"Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper",
Analytical Chemistry, 80, 6928-6934, (2008)
- 2) Umezawa K, Nakamura Y, Makino H, Citterio D, Suzuki K,
"Bright, color-tunable fluorescent dyes in the visible-near-infrared region",
Journal of the American Chemical Society, 130, 1550-1551, (2008)
- 3) Hifumi H, Yamaoka S, Tanimoto A, Akatsu T, Shindo Y, Honda A, Citterio D, Oka K, Kuribayashi S, Suzuki K,
"Dextran Coated Gadolinium Phosphate Nanoparticles for Magnetic Resonance Tumor Imaging",
Journal of Materials Chemistry, 19, 6393-6399, (2009)
- 4) Hiruta Y, Yoshizawa N, Citterio D, Suzuki K,
"Highly Durable Double Sol-Gel Layer Ratiometric Fluorescent pH Optode Based on the Combination of Two Types of Quantum Dots and Absorbing pH Indicators",
Analytical Chemistry, 84, 10650-10656, (2012)

④ その他

上述したケミカルセンサー応用製品の開発と事業化により、2009年日本分析化学会先端分析技術賞・JAIMA 機器開発賞を受賞した。

⁴⁰ <http://aissy.co.jp/service/research.html>、慶應義塾大学 鈴木研究室 HP など

3.2.4 ゲノム制御・検出能をもつ革新的人工核酸の創製(関根光雄)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

関根らがすでに開発した塩基部無保護 DNA 化学合成法⁴¹や人工塩基による高精度塩基識別法などの新技術を基に「核酸の新規合成法」と「革新的な新機能を有する人工核酸」の創製を目指した。

② 期間中の研究成果

DNA 合成においては、塩基部無保護法、短工程 DNA 合成法、固相合成用リンカーの開発など、RNA 合成においては、新規な RNA 合成法、安定な RNA の合成などの新規合成法や技術を創出した。特に塩基部無保護法は、単工程ではほぼ 100%に近い反応選択率を示すものにまで改良された。オリゴマー等の合成において選択率の向上により収率を高めたことは実用性でも優れた成果である。

一方では、保護基を導入することによって、塩基識別能を向上させた保護 DNA プローブの合成にも成功し、DNA 鎖伸長の反応工程数を 3→2 に短縮する手法を開発した。RNA 合成においては 0-シアノエチル化された新しい RNA を合成してその優れた性質を明らかにしており、その応用範囲は広いものと考えられる^{1),2)}。

新規なホスホロチオエート/ホスフェート混合型 DNA の立体選択的合成法の開発は注目されており、今後の応用開発が期待される。また、c-di-GMP(環状ビス(3'-5')ジグアニル酸)の新規高効率大量合成法は用途の飛躍的な拡大に寄与しており、数多くの共同研究提案を受けて多くの新たな生理活性の発見がなされた³⁾。生体内で起こる損傷を受けた DNA の修復は生命体の根幹に関わる現象であるが、その複雑さ故に謎の多い作用である。損傷塩基オキザニンを鎖中に組み込んだ DNA オリゴマーの合成に成功し、リガーゼや制限酵素などの DNA 認識酵素に認識させることにも成功し、新規な修復機構発見のための釣り針としての用途に使える可能性を示している⁴⁾。本研究領域開始当初 10 テーマで研究を推進したが、研究の進展に伴って適宜研究テーマを追加し最終的には 20 テーマに増えた。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Ohkubo A, Ezawa Y, Seio K, Sekine M,
"O-selectivity and utility of phosphorylation mediated by phosphite triester intermediates in the N-unprotected phosphoramidite method",
Journal of the American Chemical Society, 126, 10884-10896, (2004)
- 2) Saneyoshi H, Seio K, Sekine M,
"A general method for the synthesis of 2'-O-cyanoethylated
oligoribonucleotides having promising hybridization affinity for DNA and RNA

⁴¹ 保護基の導入や脱保護基の反応工程に必要な試薬や操作を省くことが出来る。また、アンモニアを用いる脱保護操作を行わなくても良いため、塩基性条件下で不安定な機能性官能基を人工核酸に導入することが出来る。

- and enhanced nuclease resistance”,
Journal of Organic Chemistry, 70, 10453-10460, (2005)
- 3) Kulesekara H, Lee V, Brencic A, Liberati N, Urbach J, Miyata S, Lee DG, Neely A N, Hyodo M, Hayakawa Y, Ausubel F M, Lory S,
“Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* diguanylate cyclases and phosphodiesterases reveals a role for bis-(3' -5')-cyclic-GMP in virulence”,
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 2839-2844, (2006)
- 4) Nakano T, Morishita S, Katafuchi A, Matsubara M, Horikawa Y, Terato H, Salem A M H, Izumi S, Pack S P, Makino K, Ide H,
“Nucleotide Excision Repair and Homologous Recombination Systems Commit Differentially to the Repair of DNA-Protein Crosslinks”
Molecular Cell, 28, 147-158, (2007)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域終了後も人工核酸の新しい種類或いは合成法の研究では世界の先端を走っている。研究費としては科研費基盤研究(A)「新時代の要求に対応できる革新的 RNA 合成法の開拓」(2009～2011 年度)および科研費新学術領域研究「機能性人工核酸の集積合成」(2009～2013 年度)などを獲得している。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域の研究成果である遺伝子検出法は東京工業大学・岡田典弘(分子進化)、同・半田宏(転写因子の分子生物学的研究)との共同研究に活用されている。

基盤研究(A)「新時代の要求に対応できる革新的 RNA 合成法の開拓」においては、世界最小の 2' -水酸基の保護基を用いる RNA の新規な高効率化学合成法ならびに新規誘導体の開発を目指している。その結果、シアノエチル基を保護基として用いる合成法を確立するとともに 2' -水酸基を N-メチルカルバモイルエチル(MCE)基で修飾することによりヌクレアーゼ酵素耐性も付与した新規な RNA 誘導体を合成することに成功した。

また、新学術領域研究「機能性人工核酸の集積合成」においては固相合成法を駆使し、塩基対系形成能と塩基識別能を向上させた機能性人工核酸を創出することを目指している。上述した 2' -水酸基の MCE 基修飾した新規 RNA 誘導体に関して、短時間・高収率で大量合成する方法を開発した。今後この新 RNA 誘導体の 2 本鎖 DNA との結合など機能の検証を行い、遺伝子発現を制御する siRNA 試薬、非天然型タンパク質の合成用などとしての実用化の可能性を検討することを予定している。

その他、DNA チップの改良に向けて、熱シフトで簡便に活性化できるチップやがんの早期発見と関係する DNA のメチル化部位(5-メチルシトシン)を検出する新しいプローブの開発とハイスループット化、電気活性バインダーを利用する遺伝子診断チップ、など人工機能核酸の創製と応用の拡大にむけた研究を展開している。

論文数は本研究領域後 50 報を越え活発に論文が投稿されている。

② 社会・経済的波及効果

高度な機能を付与された人工核酸は遺伝子診断や治療などに役立つツールになると期待されている。本研究者らは、DNA や RNA 塩基のミスマッチを抑制して反応や検出の精度を高めるべくプローブや誘導体の設計或いは合成法の考案に努め、この分野では世界をリードするレベルにある。これらが順次実用化して製品に活かされると高精度の DNA チップ、siRNA 治療剤としてがんなどの疾病や遺伝子疾患などの診断や治療に大きく寄与し、それらの製品は医療や臨床検査分野の産業の発展につながる。

本研究領域の成果である保護 DNA プローブの実用化に向けて文科省ゲノムネットワークプロジェクト研究「次世代ゲノム解析技術の開発—新技術を基盤とした革新的遺伝子解析システムの開発」(2004~2008 年度)において、ヒトの遺伝子ゲノムネットワークに関する網羅的解析法の開発に取り組んだ。また、このプローブは PCR のプライマーとしても大きな可能性があることから、JST 顕在化ステージ(2007~2008 年度)において株式会社ファスマックと共同研究開発を実施した。更に、ソナック株式会社やシグマアルドリッチジャパン株式会社との共同研究開発も実施した。

本研究領域に参画した清尾准教授は NEDO 産業技術研究助成事業プロジェクト研究「small RNA の選択的・網羅的検出を指向した人工 RNA プローブの開発」(2005~2007 年度)において本研究領域で得られた知見を基に人工 RNA プローブの開発に取り組んだ。

また、本研究領域において大量合成法が確立され、サンプルの提供が可能となった環状ジグアニル酸(c-di-GMP)および誘導体について、細菌のバイオフィーム形成阻害や免疫活性化のメカニズムの研究が進んでおり新たなタイプの感染症治療薬やがんへの免疫療法の可能性がある。

本研究領域から国内特許 37 件、海外特許 11 件が出願され、成立件数も増えている。本研究領域終了後の国内出願は 3 件である。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Ohkubo A, Kasuya R, Aoki K, Kobori A, Taguchi H, Seio K, Sekine M, "Efficient synthesis of functionalized oligodeoxyribonucleotides with base-labile groups using a new silyl linker", *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 5345-5351, (2008)
- 2) Mizuta M, Seio K, Ohkubo, A, Sekine M, "Fluorescence properties of pyrimidopyrimidoindole nucleoside dC PPI incorporated into oligodeoxynucleotides", *Journal of Physical Chemistry B*, 113, 9562-9569, (2009)
- 3) Seio K, Mizuta M, Tasaki K, Tamaki K, Ohkubo A, Sekine M, "Hybridization-dependent fluorescence of oligodeoxynucleotides incorporating new pyrene-modified adenosine residues", *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 8287-8293, (2008)
- 4) Yamada T, Okaniwa N, Saneyoshi H, Ohkubo A, Seio K, Nagata T, Aoki Y, Takeda S, Sekine M, "Synthesis of 2'-O-[2-(N-methylcarbamoyl)ethyl]ribonucleosides using

oxa-michael reaction and chemical and biological properties of oligonucleotide derivatives incorporating these modified ribonucleosides”,
Journal of Organic Chemistry, 76, 3042-3053, (2011)

④ その他

関根は、2010年、第63回日本化学会賞を受賞した。

3.2.5 疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析(松岡英明)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

標的遺伝子の発現を制御した疾患モデル動物を効率的に作製することを目指し、特に糖尿病について高効率マイクロインジェクション技術開発、遺伝子改変細胞・個体・組織・分化細胞の作製、それらの機能解析に取り組んだ。

② 期間中の研究成果

糖尿病疾患モデル ES 細胞ライブラリーとしては、一つの遺伝子がノックダウンされた ES 細胞 8 種、二つの遺伝子がノックダウンされたダブルノックダウン ES 細胞 3 種の作製に成功した。また、RNAi 法により作製されたノックダウン ES 細胞の遺伝子発現特性の評価のために単一細胞操作支援ロボット(SMSR: Single-cell Manipulation Supporting Robot)を開発した²⁾。この SMSR の技術開発によって、マイクロインジェクションの効率が飛躍的に向上し研究が加速された¹⁾。本研究領域終了時点では、フェムトグラムの遺伝子のインジェクション⁴²⁾が可能となった。この技術は植物細胞にも適用が可能で応用範囲の広いものであり、世界中の研究者に注目され共同研究も始まっている。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Matsuoka H, Shimoda S, Ozaki M, Mizukami H, Shibusawa M, Yamada Y, Saito M, "Semi-quantitative expression and knockdown of a target gene in single-cell mouse embryonic stem cells by high performance microinjection", *Biotechnology Letters*, 29, 341-350, (2007)
- 2) Yamada Y, Yamaguchi N, Ozaki M, Shinozaki Y, Saito M, Matsuoka H, "An instant cell recognition system using a microfabricated coordinate standard chip useful for combinable cell observation with multiple microscopic apparatuses", *Microscopy and Microanalysis*, 14, 236-242, (2008)
- 3) Inoue K, Noda S, Ogonuki N, Miki H, Inoue S, Katayama K, Mekada K, Miyoshi H, Ogura A, "Differential developmental ability of embryos cloned from tissue-specific stem cells", *Stem Cells*, 25, 1279-1285, (2007)

⁴²⁾ フェムトインジェクションは、単一細胞に対して遺伝子、機能性核酸・タンパク、酵素、抗体、薬剤などをその場で直接細胞に入れる技術で、入れる量がフェムト(10^{-15})グラムのレベルで定量的に制御できる。自ら開発した専用ロボットやデバイスを利用して、ES 細胞のような小さくてデリケートな細胞でも高効率、高精度に注入できる。

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の主要な成果であるフェムトインジェクション技術の開発と、マウスをモデル動物とした糖尿病疾患モデル ES 細胞のライブラリー作成、をさらに発展させ活かすべく研究が継続されている。助成金の獲得としては、文科省特別教育研究経費「次世代型バイオリソース」(2009～2011 年度)が糖尿病モデル細胞ライブラリーの構築に関して、また、科研費 基盤研究(A)「ES 細胞における未分化状態の動的制御機構の解析」(2011～2014 年度)がある。

① 科学技術の進歩への貢献

フェムトインジェクションの応用範囲は広く、単一の ES 細胞への半定量的遺伝子導入(細胞質、核)、S コロニー中の標的細胞への siRNA 発現ベクターの導入が可能であり Ca^{2+} の流入を介した電氣的遺伝子発現・細胞内での酵素反応計測など広い範囲にわたる応用も可能である。動物細胞のみならず植物細胞や微生物にも及び試作装置を使った応用研究が国内、海外で行われている。

糖尿病モデル ES 細胞ライブラリーとしてはフェムトインジェクションによる siRNA 注入技術を用いて期間中に 1 遺伝子がノックダウンされた ES 細胞 8 種、2 遺伝子がノックダウンされたダブルノックダウン ES 細胞 3 種が作製され、「疾患モデル用 ES 細胞ライブラリー」としてプラットフォーム化の先鞭をつけた。このライブラリーは遺伝子改変 ES 細胞での遺伝子発現や分化誘導の研究、或いは関係する疾患のモデルマウスの作製などとして応用範囲が広い。その 1 例として、松岡英明らはインスリン産生細胞と筋肉細胞を使った選択的分化誘導の研究を行っている。糖尿病ではインスリン産生細胞による生成効率が低いため糖尿病モデル細胞を使って分化過程での阻害要因を調べている。また、筋肉細胞では、スペルミンの興味ある効果を発見した。それまで単層しかできなかった筋線維が、世界で初めて、ES 細胞から培養によって直接多層化させることができた。朝鮮人参中の多くの薬理活性成分を調べた成果の一つである。

本研究領域で目標とした病態モデルマウス作製については、本研究領域終了後、2009 年 8 月、第一号のグルコキナーゼ遺伝子ヘテロノックアウトの作製に成功し、以後、継代を続けており、2011 年度中に第 10 世代まで作製している。

② 社会・経済的波及効果

フェムトモルのインジェクション技術は、ナノ・ピコモル(印刷インクジェットレベル)をはるかに超えた精密なものである。この技術を用いて一遺伝子或いは複数の遺伝子を定量的に導入することが可能となり、蛍光発色法との組合せで新たな遺伝子の定量的な解析法やアッセイ法を提供すること或いは特定遺伝子の個別の機能或いは複数遺伝子の協力的な働き of 精密な解明が可能になり、医学的、動物・植物学的研究に寄与する。病態モデル細胞およびライブラリーに関しても、その医療研究や医薬開発研究への波及効果は極めて大きく松岡英明らが作製に成功したグルコキナーゼ遺伝子ヘテロノックアウトは糖尿病予

備軍モデルとしての利用が期待されている⁴³。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Funabashi H, Takatsu M, Saito M, Matsuoka H,
"Sox2 regulatory region 2 sequence works as a DNA nuclear targeting sequence
enhancing the efficiency of an exogenous gene expression in ES cells",
Biochemical and Biophysical Research Communications, 400, 554-558, 2010
- 2) Funabashi H, Sugimoto Y, Saito M, Matsuoka H,
"A femto-injection technique for dynamic analysis of protein function in living
embryonic stem cells",
Biotechnology Letters, 34, 1257-1262, (2012)

④ その他

松岡は、2009年、電気化学会論文賞を受賞した。

⁴³ 東京農工大学 松岡・斉藤研究室 HP など

3.3 2003 年度採択課題

3.3.1 細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製(片山佳樹)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

さきがけ研究領域「組織化と機能」研究課題「細胞情報と科学情報を相互変換する分子の創製と機能」の成果を発展させて、全く新しい概念に基づく遺伝子治療法の創製を目指した。具体的には、疾患細胞に特異的に亢進している細胞内シグナルに応答し、その部位だけで遺伝子を発現させる分子システムを構築しその有効性を実証することを目標とした。

② 期間中の研究成果

無細胞系で見出した遺伝子制御剤を用いて培養細胞内での遺伝子制御に成功した。その遺伝子制御メカニズムは DNA 鎖の運動を抑え込むことによって転写を抑制している可能性があることを示した。さらに、独自の基質スクリーニング用ペプチドアレイを開発し、これまで不可能であった特異基質の開発に成功した。各種の細胞内シグナルに応答するキャリアとしてプロテインキナーゼを始めとする各種のシグナルに対する遺伝子制御剤を開発した^{1),3)}。

がん細胞の Proteinkinase C α に関して、担がんマウスを用いて、正常細胞では発現せずがん細胞でのみ遺伝子を特異的に発現させることに *in vivo* で初めて成功した。谷澤グループが開発した B 型肝炎ウイルスのエンベロップ蛋白と脂質からなるナノ中空粒子に片山グループが開発した遺伝子制御剤と遺伝子を封入して担がんマウスに投与し、ヒト肝臓がん由来の腫瘍組織にのみ遺伝子発現が効率よく起こり、ヒト大腸がん由来の組織では発現が起こらないことを確認した。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Oishi J, Kawamura K, Kang J-H, Kodama K, Sonoda T, Murata M, Niidome T, Katayama Y,
"An intracellular kinase signal-responsive gene carrier for disordered cell-specific gene therapy",
Journal of Controlled Release, 110, 431-436, (2006)
- 2) Kodama K, Katayama Y, Shoji Y, Nakashima H,
"The features and shortcomings for gene delivery of current non-viral carriers",
Current Medicinal Chemistry, 13, 2155-2161, (2006)
- 3) Kawamura K, Oishi J, Kang J-H, Kodama K, Sonoda T, Murata M, Niidome T, Katayama Y,
"Intracellular signal-responsive gene carrier for cell-specific gene expression",

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域終了後も新しい診断・治療方式実現のための研究を進めている。研究費の獲得状況としては、JST 産学協同シーズイノベーション事業化事業「キナーゼペプチドアレイの創薬および診断への応用検討」(2008~2009 年度)、科研費基盤(B)「細胞内シグナル応答型遺伝子制御分子システムによるがんイメージング法の開発」(2008~2010 年度)、科研費挑戦的萌芽研究「がん機能イメージングのための新規プロテインキナーゼイメージングシステム」(2009~2010 年度)、科研費新学術領域「機能性クロマチンとしての人工遺伝子制御システムによる遺伝子転写調節概念」(2009~2010 年度、および 2011~2012 年度)、科研費基盤(A)「抗がん剤投薬診断のための次世代ペプチドアレイ」(2012~2014 年度)などを得て、活発な研究が展開されている。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域において、疾病関連の細胞内シグナルに標的をあわせた遺伝子治療方法の実験的なモデルを作るために基盤研究を行い多くの成果を得た。対象疾患を、がん、高血圧症、ウイルス疾患の3つとし、それぞれの疾患で亢進している細胞内シグナル分子として、がんと高血圧症では5種のキナーゼ、ウイルス疾患では4種のプロテアーゼを標的とし、それぞれに対応するペプチド基質を設計し合成した。特にProteinkinase C α については、担がんマウスにおいて導入した遺伝子の発現に成功し、B 型肝炎ウイルスのエンベロープタンパクを組み込んだナノ粒子が肝臓がん組織に特異的に導入できること、さらにRho-kinase が肺高血圧症の特異的シグナルであることを見出し、ペプチド基質を作成している。ウイルス感染症に関しては、HIV の構成ペプチドの一つである Tat ペプチドを合成して組み込み、HIV-1 プロテアーゼの認識レベルを上げ HIV 感染細胞内で導入遺伝子を放出させることを試みた⁴⁾。

染色体中で DNA と複合体を形成しているヒストンのテール構造を導入した人工遺伝子調節剤を作製し、DNA 鎖の運動性と遺伝子転写への影響を検討した。また、がんの病態に関連すると考えられる細胞内キナーゼの活性をイメージングする分子システムを開発した。Proteinkinase C α に応答するレポーター遺伝子を、ナノカプセルを使ってマウスのがん細胞内に送り込み、キナーゼと反応後発現させてがん細胞を蛍光で可視化することに成功した。Proteinkinase C α に特異的な分解反応基質として各種のペプチドや複合体が合成され、検討された^{1),3)}。1 例として、11 アミノ酸からなる短いペプチド(Alphatomega ; H-FKKQGSFAKKK-NH²⁾) が乳がんなどの PKC- α アイソザイムを識別するのに有用であることが報告された²⁾。本研究は、さきがけ研究から新しい概念に基づいて開始されたものあり研究成果が蓄積され、発表されるに従い、その独創性に興味を示す研究者も増え、米国遺伝子治療学会においてハイライトとして発表するに至った。

論文数は本研究領域終了後約 70 報、特許出願が 9 件と、研究の発展を窺わせるものである。

② 社会・経済的波及効果

基質ペプチド探索システムは診断・創薬ツールとして複数企業からアクセスがあり、韓国・フランスとの共同研究の可能性や、機能性造影剤においては米国企業2社から照会を受けている。今までのDDS的な考え方とは異なって、特異的な細胞内シグナルタンパクを標的として利用しながら外部遺伝子を導入しようとする独創的な手法であり、本方法ではこれまで利用が断念されていた治療用遺伝子が使用可能になり、レポーター遺伝子を併用することによるin vivoイメージングも可能となり、新たな診断ツールとして利用できる。この手法の応用はがんのみならず難病や成人病など多くの疾患に適用可能で、安価な診断方法の提供や新薬の開発速度のアップが期待できる。現時点ではまだ本手法の基礎を確立した段階であり、診断や治療薬として使われるまでには多くのハードルが想定されるが、実現したときの診断と治療上のメリットは大きい。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Kang J-H, Asai D, Kim J-H, Mori T, Toita R, Tomiyama T, Asami Y, Oishi J, Sato Y T, Niidome T, Jun B, Nakashima H, Katayama Y,
"Design of polymeric carriers for cancer-specific gene targeting: Utilization of abnormal protein kinase C α activation in cancer cells",
Journal of the American Chemical Society, 130, 14906-14907, (2008)
- 2) Kang J-H, Asai D, Yamada S, Toita R, Oishi J, Mori T, Niidome T, Katayama Y,
"A short peptide is a protein kinase C (PKC) α -specific substrate",
Proteomics, 8, 2006-2011, (2008)
- 3) Toita R, Kang J-H, Kim J-H, Tomiyama T, Mori T, Niidome T, Jun B, Katayama Y,
"Protein kinase C α -specific peptide substrate graft-type copolymer for cancer cell-specific gene regulation systems",
Journal of Controlled Release, 139, 133-139, (2009)
- 4) Asai D, Kuramoto M, Shoji Y, Kang J-H, Kodama K B, Kawamura K, Mori T, Miyoshi H, Niidome T, Nakashima H, Katayama Y,
"Specific transgene expression in HIV-infected cells using protease-cleavable transcription regulator",
Journal of Controlled Release, 141, 52-61, (2010)

④ その他

片山佳樹は2010年日本分析化学会 Hot Article Award Analytical Sciences 賞、2011年 Elsevier Top Reviewer 賞、2010年 TANAKA ホールディングス研究助成金制度シルバー賞を受賞した。

3.4 2004 年度採択課題

3.4.1 低分解能生体超分子像からの原子構造構築技法(由良敬)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

ゲノム配列が決定された後の生命科学研究において、近年ゲノムにコードされているタンパク質の立体構造解析が重要となってきた。生体超分子の立体構造は、電子顕微鏡によって解析されているにもかかわらず生体超分子中のタンパク質の立体構造が明らかになっているものは少ない。本研究領域では、コンピュータによる計算から電子顕微鏡により得られる低分解能超分子像に X 線構造解析で得られる高解像度要素タンパク質構造をあてはめ、タンパク質の立体構造解析を試みた。

② 期間中の研究成果

電子顕微鏡像の取得においては、透過型電子顕微鏡を用い、電子線トモグラフィーの手法を適用した単粒子トモグラフィー法を開発した。この手法を用いて、細胞接着分子受容体インテグリン、脳の層構造形成を司る細胞外タンパク質リーリン、DNA 修復促進タンパク質 PprA、DNA ポリメラーゼを DNA につなぎ止めるクランプとクランプローダーの単粒子解析による三次元構造の取得に成功した^{1),3)}。mRNA からペプチドを合成する酵素リボソームの立体構造解析においては、83%の当てはまり度を達成した²⁾。クランプの場合には、手作業で数ヶ月を要して得られた 84%の当てはまり度に比較できる 77.5%の当てはまり度を、ほぼ数日の計算で得ることができた。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Miyata T, Suzuki H, Oyama T, Mayanagi K, Ishino Y, Morikawa K
"Open clamp structure in the clamp-loading complex visualized by electron microscopic image analysis",
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102, 13795-13800, (2005)
- 2) Kim O T P, Yura K, Go N,
"Amino acid residue doublet propensity in the protein-RNA interface and its application to RNA interface prediction",
Nucleic Acids Research, 34, 6450-6460, (2006)
- 3) Nogi T, Yasui N, Hattori M, Iwasaki K, Takagi J,
"Structure of a signaling-competent reelin fragment revealed by X-ray crystallography and electron tomography",
EMBO Journal, 25, 3675-3683, (2006)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

研究費は、文科省ターゲットタンパク研究プログラム「タンパク質の複合構造を推定するための構造バイオインフォマティクス」(2007～2009年度)を得ており、共同研究者も並行して獲得している。由良敬は2008年よりお茶の水女子大学教授に転出し研究室を主宰している⁴⁴。

① 科学技術の進歩への貢献

今まで、タンパク質やその複合体などの生体高分子の静的な構造は電子顕微鏡像やX線構造解析を基に描かれてきたが、本研究領域の研究成果は動的形態変化の描出のための基礎的技法を確立し、それを“あてはまり度”という指標で検証して技法理論の正当性と高い水準での相関性を証明することに成功した。この計算技法で、接着分子インテグリンの静止型から活性型への動態構造変化を描出し、電子顕微鏡などによる構造観察と合致する結果が得られた。

② 社会・経済的波及効果

生体分子の詳細な立体構造情報を得るための計算技術に関する基礎的な研究として、将来医療などでの波及効果が期待される。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Matsumoto A, Kamata T, Takagi J, Iwasaki K, Yura K,
“Key interactions in integrin ectodomain responsible for global conformational change detected by elastic network normal-mode analysis”,
Biophysical Journal, 95, 2895-2908, (2008)
- 2) Yura K, Miyata Y, Arikawa T, Higuchi M, Sugita M,
“Characteristics and prediction of rna editing sites in transcripts of the moss *takakia lepidozoides* chloroplast”,
DNA Research, 15, 309-321, (2008)
- 3) Yura K, Hayward S,
“The interwinding nature of protein protein interfaces and its implication for protein complex formation”,
Bioinformatics, 25, 3108-3113, (2009)

④ その他

本研究領域研究員だった米谷佳晃が、日本原子力研究開発機構の任期付研究員を経て、2012年7月より同機構の副主任研究員となっている。

⁴⁴ お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科ライフサイエンス専攻に新しく設立された。
<http://cib.cf.ocha.ac.jp/yuralab/index.html>

第4章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況

4.1 研究領域からの研究成果事例

昨(2012)年度の追跡調査は主に文献資料や情報によるものであったので、今回、バイオ素子・システム領域全13研究課題の中で、FIRSTに選定され、研究成果が特に顕著な2つの課題(研究代表者岡野光夫、同片岡一則)について調査の深化を図るため、研究代表者にインタビューを行い成果の確認とその意義並びに将来展望について聴取し昨年度調査の追補としてまとめた。

4.1.1 新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製(岡野光夫)

4.1.1.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況

本研究課題は、当初の目標として細胞をナノ技術を用いて固定化し、バイオセンサーなどに有用な新規組織を創出することを目指して開始された。その過程で岡野光夫らは工学的アイデアを導入し、培養皿表面に約20nm厚で温度応答性ポリマーを敷設し、細胞を培養後温度を低下することにより細胞単層を脱着させ細胞シートとして容易に回収できることを見出した。折しも、細胞シートが再生医療にとって必須のツールになることが明らかになり、その作製技術の確立、量産化、組織再生への応用研究が急ピッチで進められた。これらは“細胞シート工学”といわれる技術領域を生み出した。

本研究領域での基礎的な成果をもとに、本技術はFIRST(3.1.3(2)項に前出)においてさらに大きな発展を遂げた。その過程で、細胞シートを用いる再生医療の実用化を図るための技術開発に関して2つの極めて大きな前進があった。1つは細胞シートの重層化と組織や臓器の創製であり、もう1つはiPS細胞(induced pluripotent stem cell)の導入である。これらの技術開発により実用化が明確な視野に入ってきた。我国から誕生したiPS細胞と細胞シートは世界の再生医療研究の先端を行くものである。

4.1.1.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

①細胞シートの重層化と組織・臓器の創製

通常、3層までの細胞シートは、酸素や栄養分が拡散・浸透するため移植後も生存可能である。しかし、それ以上重層化された細胞シートにおいては血管系を細胞シートに導入し酸素と栄養分を供給することが必要である。岡野光夫らはこの細胞シートの重層化に世界で初めて成功した。

ラットの太ももから切り出した薄い筋肉切片を下敷き(土台)にして血管床とし、その上に心筋細胞と血管内皮細胞(Endothelial cell: EC)の共培養でつくった細胞シートを3枚重ねた“3層シート”(Triple-sheet)を留置し3日間培養したところ、3層シート内に含ま

れる EC が形成した管腔構造と血管床の毛細血管が接続し培養液の灌流がみられ生着が確認された。これを 3 枚(triple)ごと繰り返し積層することで合計 12 層の血管網を有する厚い重層構造の心筋細胞シートを作製することができた。この過程では EC との共培養と FGF-2(fibroblast growth factor 2)の存在が必須であった。この方法を用いることにより(図 4-1 参照)1 センチ角程度の血管つきの心筋組織を作製し、さらに細胞シートの血管と生体の血管とを吻合させることにより人工組織・臓器モデルの創製に成功した。実際に、心筋細胞由来の三次元重層細胞シート組織をマウスの頸部に移植し微小血管を吻合したところ、移植された心筋細胞シート組織は生着し、宿主の心臓とは独立した強い拍動が認められた。これらの結果は、細胞シートから臓器のミニモデルを *in vitro* の培養系で作製することに成功したこと意味する。このようにして作製された組織を生体の循環系に繋ぎ、長期にわたり機能を発揮させることで心筋梗塞などの治療に応用できる可能性がある。

同様に、太ももの筋肉切片の代わりに、コラーゲンゲルの微小な流路を成型して作製された人工血管床の上に血管内皮細胞などを混ぜた細胞シートを置いて培養すると血管が形成された。本技術を用いることにより、iPS 細胞などから心筋細胞や神経疾患モデル細胞シートを作製し薬剤効果の試験などに使用できる^{1), 2), 4), 5), 6)}。

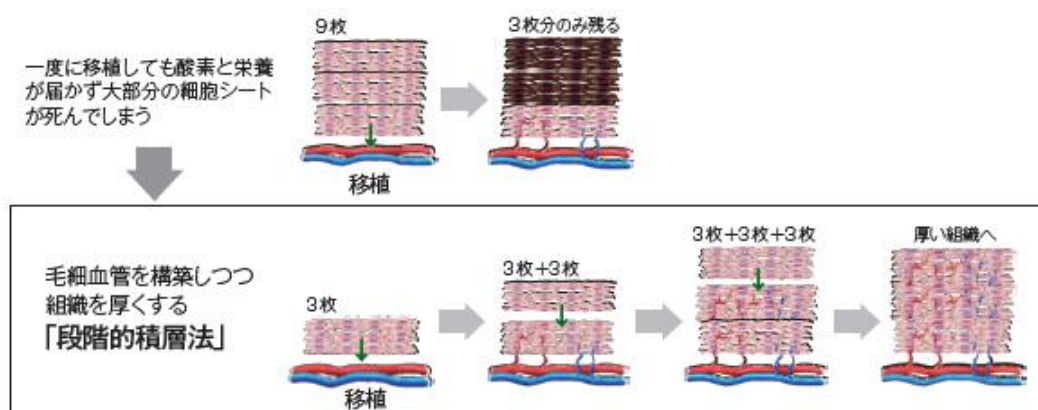


図 4-1 細胞シート組織の段階的積層⁷⁾

また、動物モデルにおいて、1mm 角程度の心筋細胞シートブロックを皮下組織に移植することにより強い拍動が得られ、重層化した細胞シートの実用性について見通しが得られた。ラットの心筋細胞シートを移植した場合約 1 年の期間、細胞の生着が認められている。

一方、臨床応用について例えば血友病患者の治療を考えた場合、肝臓容積の 5% ぐらいの大きさの部分肝臓があれば患者が必要とする凝固因子を生産することができ正常な凝固機能を回復することができる。従って、細胞シートを使って部分肝臓を作り、患者の皮下や腹腔等異所的に移植し治療することが想定されている。同様に、糖尿病患者の治療においても細胞シートを用いることにより患者の膵臓を代替することが可能である。

細胞シートと血管系を備えた代替臓器の臨床での使い分けについては、
(A)細胞シートの貼り付けで改善できるもの：上皮系の細胞シートを使用しての角膜上皮、食道、歯根膜、心筋壊死、軟骨、皮膚、子宮、膀胱、耳管、肺の気胸などの修復・再生

(B)臓器不全に対する代替臓器の装着を想定しているもの：肝臓、膵臓、心臓(拡張型心筋症)、腎臓など

(A)に関しては既に臨床施設と共同で実用試験に入っている。これに対して(B)の場合、代替臓器の形状や術式などの医学的検討が必要で実用化されるまでにはまだ時間がかかる。

②iPS細胞の培養技術の確立と細胞シート化

今までの細胞シートの作製は患者自身から幹細胞などの細胞を分離して培養し細胞シートを作製する、いわゆるテーラーメイド方式であった。この方法は時間もコストもかかる点が課題であった。これに対して iPS 細胞が登場して局面は新たな段階に入った。

心筋細胞自身は増殖しないので心筋細胞シートを患者自身の心筋細胞から直接作製することは出来ない。そのため、まず患者の太ももの筋肉から増殖可能な筋芽細胞を分離し、それらを増殖させたのちに心臓表面に貼付し心機能回復を図る臨床試験を現在進行中である。一方、iPS 細胞を用いる場合、皮膚の上皮系細胞から iPS 細胞を作製しあらかじめ大量に増殖させた後に心筋細胞に分化誘導し、細胞シートを作製することが可能である。

岡野光夫らはヒト iPS 細胞を未分化状態を維持したまま安定的に大量培養する技術の開発に成功し、さらにヒト iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導をバイオリクターを使って高効率(80%以上)に達成する技術を確立した³⁾。その結果、iPS 細胞から分化誘導された心筋細胞を用いる高品質の心筋細胞シートの量産が可能となった。皮膚以外にも粘膜細胞などから iPS 細胞を作製することも可能であり、さらに心筋以外の細胞への分化誘導も誘導因子を変えることで可能であることから、理論上、ほぼあらゆる種類の組織、臓器を作製することが可能となった。現在、iPS 細胞から作製された心筋細胞シートの安全性試験が実施されており大阪大学では2-3年後にヒトでの臨床研究を開始する予定である。

一方、京都大学の山中伸弥らはヒト iPS 細胞のバンク化を進めている。バンク化された iPS 細胞は白血球型などで細かく分類されており移植を受ける患者の白血球型に近い iPS 細胞を選択することにより免疫反応を抑制できると考えられる。iPS 細胞は画期的技術であるが iPS 細胞そのままでは臨床使用できない。そこで、これを大量培養した後に目的とする細胞に分化誘導し、細胞シートを作製して使用する。患者自身の皮膚細胞などから iPS 細胞を作製した後に特定臓器へと分化誘導する方式(テーラーメイド)は手間と時間がかかるのに対してバンク化されストックされた iPS 細胞のリストの中から患者に対する免疫型が近い細胞株を選択しこれを目的とする細胞へと誘導・分化し作製する方法はシステム化が容易でコストも安価になることから実用化が加速される。

③細胞シートの大量供給及び自動化技術の開発

東京女子医科大学と早稲田大学が設立した医学と工学を融合する研究拠点である先端生命医科学センターTWIns では、細胞シート工学を基盤技術(プラットフォーム技術)として世界初の「細胞シート工場」の研究開発を進めている。「工場」は細胞シート製造の各工程を担う機器を組み合わせた装置から成り、各機器が取り囲む中心部の六角形のスペースには運搬用アームが配置され、細胞や組織が自動的に搬送される(図 4-2)。自動細胞製造工程は、(i) 組織をバラバラにして必要な細胞を分離する、(ii) 細胞を培養して大量に増や

す、(iii) 細胞シートを作製する、(iv) シートを重ねる、という手順からなり、電機メーカーや医療機器メーカー、ベンチャーなどの最先端技術が持ち寄られている。iPS 細胞から重層化細胞シートを作製する場合は上記工程の(ii)からとなる。これにより、従来のCPC(Cell Processing Center)では年間に患者10-30人分の細胞シートを作製することが限界であったものが年間30-80人分の重層化細胞シートを作製することが可能となり、自動化によりコストを大幅に低下できる見込みである。既に、試験的な稼動に入っており、再生医療の本格的実用化にあわせて「組織ファクトリー」「臓器ファクトリー」へと発展させてゆくことを目指している⁸⁾。

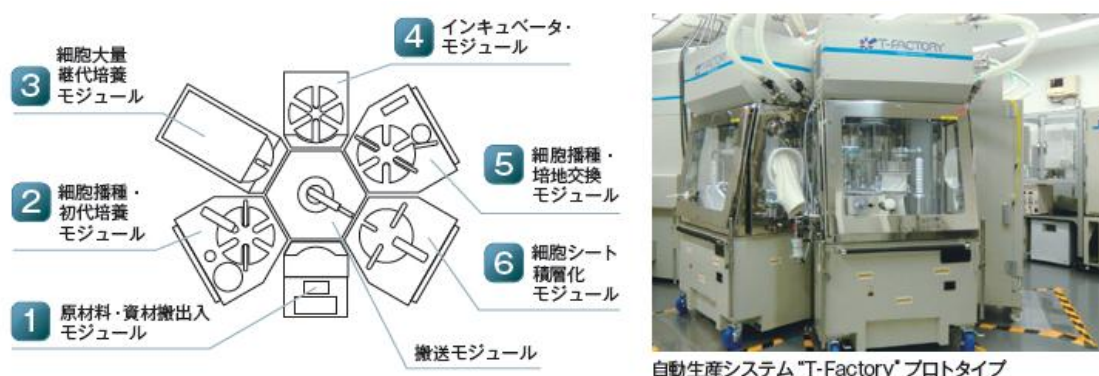


図 4-2 自動生産システムの模式図(左)及びプロトタイプの写真(右)⁷⁾

④臨床での細胞シートの適用と実用化試験

再生医療実現に向けた細胞シートの各生体組織への適用と、国内、海外の医療施設との協力による臨床試験状況を要約する。

- ・ 難治性中耳炎、真珠腫に対する鼻粘膜上皮シート移植(東京慈恵医科大学)
- ・ 食道がん、食道狭窄に対する再生医療一口の粘膜細胞から作った細胞シートを使用した臨床研究(東京女子医科大学)、臨床試験(カロリンスカ研究所で7例実施)、細胞シートの空輸(長崎大学)
- ・ 心筋梗塞(虚血性心疾患)、拡張型心筋症に対する心筋細胞シートを用いた臨床研究(大阪大学)、テルモ株式会社が3箇所の病院で開始、筋芽細胞シートを用いた治験を開始
- ・ 肺(気胸)に対して、患者の皮膚から細胞シートを作製(東京女子医科大学)
- ・ 角膜上皮幹細胞疲弊症を対象とする角膜再生上皮シート(東北大学)、フランスでの治験終了(株式会社セルシード)
- ・ 網膜黄斑変性、網膜 iPS 細胞シート(理化学研究所)(治験申請)
- ・ 膝、変形性関節症の軟骨再生(東海大学)
- ・ 8) 歯根膜からのシートを用いる歯根骨の再生、歯周病、歯槽膿漏の治療(東京女子医科大学)

なお、臨床試験導入が最も早かったフランスでは、角膜細胞シートの治験が26例終了し、現在、ドイツとイギリスでの追加試験を計画中である。一方、日本では後述するように薬事法が改正される見込みで、早期に承認される可能性が出てきた。この他、欧州ではバレ

ット食道炎(胃酸逆流による胃噴門辺の食道狭窄)に対して、口腔粘膜から採取した扁平上皮の細胞シートを貼り付ける臨床試験がスウェーデン・カロリンスカ研究所で7例実施された。

国内では長崎大学の食道がん患者の細胞を東京女子医科大学に移送して細胞シートを作製し長崎大学に再移送し移植する手術が2例実施され成功した。

細胞シートによる再生医療を目的として東京女子医科大学、長崎大学、大阪大学、国立成育医療センター、東北大学の5つが連携し大学病院の壁を越えた細胞シートの移動や臨床に向けての共同研究が行なわれている。海外からは米国ハーバード大学、ピッツバーグ大学、ユタ大学が関心を示し共同研究の打診があった。

(2) 社会経済への波及と展望

①再生医療分野の急速な展開

治療不可能な疾患や老化など機能の劣化による障害を持った患者の治療に対して、細胞シート技術による治療の可能性が一挙に開けてきた。例えば、血友病は血液凝固因子のうちVIII因子、IX因子の欠損ないし活性低下による遺伝性血液凝固異常症であり、遺伝子組み換え型製剤などにより治療されているが、薬剤は高価でしかも生涯薬剤を取り続ける必要がある。一方、細胞シート技術を応用して作製された人工肝臓を患者に移植することが可能になれば、一度の手術で患者を救済することができる。

岡野光夫らによる細胞シートに関する基礎的な研究が発展し、細胞から細胞シート、細胞シートから代替組織、人工臓器の作製において前述のような大きな技術的ブレークスルーがあり適用可能な疾患範囲の拡大に展望が開けてきた。

②再生医療促進のための法規制の改正

再生医療を進める上で我国の法整備について大きな前進がみられ、2013年4月に再生医療推進法が国会で可決成立した。また5月にはそれを具体化する薬事法改正案と再生医療安全確保法案が閣議決定され国会に提出された。我国から生まれたiPS細胞と細胞シートを念頭に国策として迅速な開発を可能とするもので2013年秋にも法案が成立する見込みである⁹⁾。その骨子は、迅速な承認制度の導入と委託制度の範囲の拡大である。再生医療製品の安全性を確認のうえ仮承認が与えられて発売が許可される。その後、臨床使用により効果が立証できれば正式承認が与えられる。また、細胞の培養や加工の委託が可能となり品質保証のための認定制度が導入される。例えば、現在、細胞シートの自動作製装置CPCが既に全国100余りの病院に導入され患者から採取した細胞の培養とシート化が行われているが装置の稼働率は10-20%程度と極めて低い。新たに細胞シート製造の委託が認可されると各病院がCPCを持つ必要はなくなり、1箇所の病院で製造した細胞シートを他の病院の治療に使えるようになる。また、企業が大型の自動化装置を設置して細胞シート製造を受託し、細胞シートバンクを備えて集中生産し治療のために供給することも可能となる。このようなシステムは、国際ネットワークを構築することにより世界へ広げることができ、日本が中心になって細胞シートを製造し、世界の病院や患者へ提供することも可能となる。

③産業化への動き、国際競争力の強化

(i) ファクトリー

前項で述べた法規制の緩和により委託・受託が可能になることにより、細胞シート製造の産業化が促進される。既に組織ファクトリーや臓器ファクトリーの共同開発に参加した企業、日本光電工業株式会社、エイブル株式会社、株式会社日立製作所、澁谷工業株式会社、旭化成株式会社、株式会社セルシード、テルモ株式会社などが事業化に意欲を示している。医療用の細胞シートは極めて高い品質が要求されその製造には設備及び技術において高いレベルが求められる。上記企業は細胞シートの自動生産システムの装置或いはモジュールを共同研究開発しており、無菌環境の中での品質管理と安定的に生産するノウハウを習得している。将来これらの企業が病院細胞シートを受託製造し、製品が専門流通業者による病院間輸送システムで迅速に届けられるという枠組みが実現すると再生医療産業は大きく育つことになる。

(ii) 知的財産権の確保と強い国際競争力

JST、東京女子医科大学、TWIns の参加企業などが細胞シート、組織・臓器やそれを応用した製品の設計と製造、或いは自動化製造装置などに関して多数の基本特許、周辺特許を出願しており国内、海外の知的財産権の確保において優位な立場にある。

(iii) 日本から世界の病院に供給

世界の病院との提携により予め海外の患者から摘出した細胞が日本の受託機関に送られ細胞シートが製造され、手術日までに送り返される等の治療方式が想定されている。一方で欧米や韓国、中国の医師を受け入れ細胞シートを用いた治療に習熟した医師を養成することも始まっている¹⁰⁾。

(iv) 株式会社セルシード

企業などへの実施権の許諾(国内、海外ライセンス)や臨床試験の実施、承認申請は主に株式会社セルシードが担当している。また、株式会社セルシードは独自開発品である細胞シート製造用の培養皿アップセル/UpCellの製造販売を行っている。

(v) その他

- ・ 岡野光夫が未踏科学技術賞を受賞(2013年7月)
- ・ 岡野光夫が東京女子医科大学副学長に就任

4.1.2 遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製(片岡一則)

4.1.2.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況

天然ウイルスの機能と構造を模倣し、遺伝子を始めとする様々な医薬品を体内の狙った組織に運び、疾病を治療・診断する安全で高機能な「遺伝子ベクター」を合成高分子や脂質分子的確な自己組織化に基づいて作り出すことが本研究領域の目標であった。その成果として、多重構造を有し多機能を備えたナノ DDS (Drug Delivery System) 粒子が開発され主として遺伝子治療への応用研究が行われた。一方、ポリアミノ酸と PEG (polyethylene glycol) から成る構造の簡単な高分子ミセルが開発されコアの部分に抗がん剤などの薬剤を封入する新たな DDS 製剤が設計された。

本研究領域での基礎的な研究成果は CREST 研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」研究課題「遺伝子治療実用化のための超分子ナノデバイス製造技術の創成」および FIRST に引き継がれ(3.1.5 (2)に前出)、精力的な応用展開がなされた。中でも抗がん剤を封入した高分子ミセルはがん細胞標的化による効果の増強、がん部位への選択的集積による副作用の軽減などが可能で、がん患者にとってメリットが大きく製薬メーカーと共同で国際的な臨床試験(米国、日本、アジア)が開始された。そのうちの2品目については既に臨床試験の最終段階である臨床第3相に到達している。さらに、高分子ミセルに高度な機能性を付加し難病を対象とする薬剤や遺伝子治療に活用できる進化した DDS の研究も大きく進展している。

4.1.2.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

① ナノ DDS による難治性膵がんの標的治療に成功

片岡一則らは白金抗がん剤を内包した高分子ミセル剤がマウスの自然発生膵がんに対して著効を示す成績を得た。本研究は移植がんモデルではなく難治性の自然発生がんの効果を示したことに高い意義があり、本 DDS 製剤の作用機構を立証し臨床での有効性をサポートする重要なデータとなった。

今回用いたマウス抗がん効果試験モデルは、がん化誘導 SV40 ラージ抗原 T を組み込んだ最新の遺伝子改変モデルでヒト同様の膵臓がんを自然発生させ進行に伴い肝転移や腹膜転移を示しヒトの膵臓がんを忠実に再現できる。実験では白金錯体抗がん剤、ダハプラチン(一般名 oxaliplatin)を内包した高分子ミセルをこの担がんマウスに投与したところ、抗がん剤はがん細胞に効果的に集中し優れた増殖抑制効果を発揮した。また、肝臓や小腸への転移やがん性腹水を抑制しマウスの生存期間を大幅に延長できた。70日後のマウス生存率は対照区では20%以下であったが、白金抗がん剤内包ミセル区では10匹全てが生きた。また、血中腫瘍マーカーの減少からもこの治療効果が裏付けられた(図4-3参照)^{14),15)}。

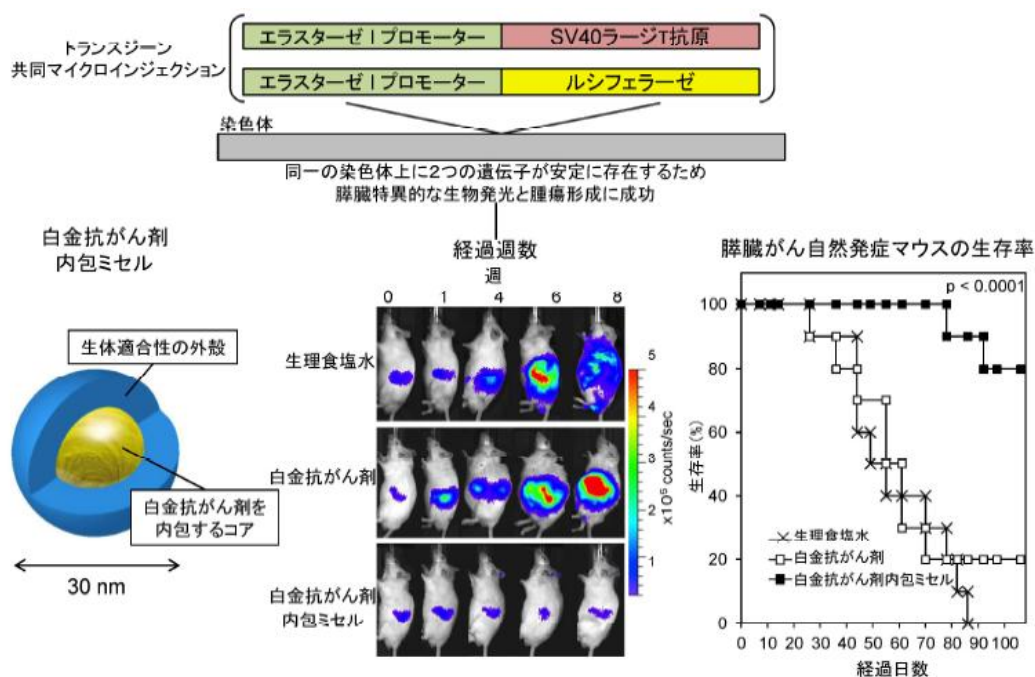


図 4-3 白金抗がん剤内包ミセルによるマウスでのすい臓がんの治療試験¹⁵⁾

②高分子ミセルの改良技術研究

高分子ミセル粒子内からの薬剤の放出をコントロールすることにより投与後の薬物の血中濃度を副作用発現濃度以下に調整すること、投与後の消失が速く効果が持続しない薬物の血中持続性を高めること、さらには、腫瘍内への薬物の移行量を高めることが可能になる。これらの利点を実現するため、ミセルの設計について種々の工学的検討が行われた。

(i) 任意なサイズのリガンド付与

高分子ミセルを構成する親水ポリマー (PEG) と疎水ポリマー (ポリアミノ酸) を混合すると化学反応を伴わない凝集による自己組織化が起こり共重合ポリマーのミセルが出来上がる。今までのリポソーム型 DDS では 100nm 以下のものを作ることは困難であったが、この方法を使うことにより 10~100nm の高分子ミセルを、10nm 刻みで製作することが可能となった。内部コア部分には 100 分子程度の抗がん剤を内包させることができ、一方、ミセルの外側にはイメージング剤やターゲット・リガンドなどをつけることができる。

(ii) ミセルのサイズとがん細胞への到達性

膵臓がんはスキルス胃がんとともに難治性のがんであり、その組織は血管密度が低く繊維質に覆われているため薬剤が到達しにくく効きにくい。片岡一則らは直径 30nm と 70nm サイズのミセルを調製しがん組織への薬剤の到達性の差異を検討した結果、30nm のミセルを用いた場合にがん細胞クラスターの中に高濃度の抗がん剤が蓄積され、組織内の抗がん剤 (白金) 分子の濃度を蛍光 X 線顕微鏡を用いて観察した結果 30nm ミセルを投与したときにがん細胞クラスター内に白金が高濃度に分布しており、高分子ミセルに封入された薬剤が標的のがん細胞に集積するという直接の証拠を得ることができた¹¹⁾。

また、薬剤はミセルの中で安定的に保護されており血中を循環する間に次第にがん組織のなかに蓄積されることがわかった。

(iii) “トロイの木馬”型ナノマシンの設計

通常、抗がん剤分子が細胞膜から細胞内に入ると細胞はこれを異物として認識し、解毒酵素が働いて分解される。それに対して高分子ミセルに封入して生体親和性をもたせた場合はエンドサイトーシスで細胞内へ取り込まれたのち細胞内の核の近くで薬剤とミセルの結合が切断され薬剤が大量に放出され高い効果を現し、あたかも“トロイの木馬”を想起させる。

(iv) 高分子ミセルの強み

片岡一則らが考案した高分子ミセルは PEG とポリアミノ酸で構成され、素材及び構造の点で比較的単純なものであるが、生体適合性、生分解性に優れ、また pH による制御やリガンド付与などの環境応答性も優れている。自己会合で作製されるので化学反応を伴わずコストも低く安全性にも優れている。

一方、DDS 製剤としては既にリポゾーム型のドキシルが販売されている。同剤は抗がん剤のドキソルビシンをリン脂質の膜に封入した徐放製剤であり片岡一則らの高分子ミセル製剤は設計上リポソーム製剤とは基本的な考え方が異なっている。

③ ターゲティング機能の付与により性能の進化を目指す研究

現在臨床試験を行っている 5 品目の高分子ミセル剤では開発コストなどの関係から特定のがんを狙ったターゲティング機能は付与されていないが、薬剤が組織内に届きにくい脳腫瘍やがん幹細胞を標的とした治療などのために、ターゲティング機能の付与により性能の進化を目指す研究が行われている。

(i) ターゲティングによる脳腫瘍治療の試み

BBB(血液・脳脊髄関門)を通過させる目的でミセルに環状 RGD ペプチドをリガンドとして装着した高分子ミセルを作製し試験した結果、高分子ミセルは血管内から組織へ移行し脳内へミセルが取り込まれることがわかった。この方法は脳腫瘍以外にアルツハイマー病などの治療にも適用可能であり脳細胞の賦活剤として処方される薬剤などをリガンドを結合した高分子ミセルに封入したミセルの設計が検討されている。

(ii) 抗体によるターゲティング

高分子ミセルの外殻に抗体分子を 1 ミセルあたり 2 分子装着するだけでターゲティング機能を発揮し薬剤を標的組織に効率的に運ぶことができる。抗体医薬品製造企業は抗体の使用量を下げることにより薬剤コストを抑え、抗体と抗がん剤を複合(ADC: Antibody-Drug Conjugate)させてターゲティング機能をもたせながら、両方の効果を相乗的に発揮させようとする研究に取り組んでおり、片岡一則らのターゲティング機能を付加された高分子ミセルのコンセプトを支持するものである。

④高分子ミセルを利用した核酸系医薬の研究

本研究領域で遺伝子治療を想定した遺伝子導入 DDS の研究を始めたが、最近、高分子ミセルを用いた mRNA、DNA や siRNA など核酸の DDS 研究が進展した。核酸系化合物は血中で早く分解されて効果を失い、特異的な免疫反応が現れるなど、課題が存在する。高分子ミセルを用いて核酸系化合物をコアに包含させた結果、それらの分解は抑制され特異反応も起こらず優れた結果が得られ、in vivo での効果も認められた。

(i)mRNA

mRNA を細胞に導入(トランスフェクト)して発現させることができれば、目的のタンパク質や酵素のみを作らせ、狙った治療効果を発揮させることができる。しかし、mRNA は不安定で分解されやすく、サイトカインの産生誘導などの問題があり実用化は困難であった。高分子ミセルコア中に mRNA を封入した大きさ 50nm の polyplex⁴⁵ ナノミセルを作製し試験した結果、mRNA がコードするタンパクの発現が約 1 週間に亘って認められ異常な免疫反応は出現せず難病の治療などに応用できる可能性が示唆された¹³⁾。

(ii)DNA

一方、DNA の高分子ミセルによる細胞への導入研究については、PEG/アスパラギン酸ポリマーのミセルを使ったがんワクチンへの適用が計画されている。日油株式会社でポリマーと DNA を封入した剤形の製造に成功しカニクイザルで安全性が確認された。九州大学では末期の腹膜播腫に対して医師主導の治験を計画している。

(iii)siRNA

ポリリジン/PEG を基本骨格とする高分子ミセルに封入した siRNA を、マウス子宮頸がんモデルに投与して検討したところがん細胞の増殖が抑制され、腫瘍内部に siRNA が蓄積しがん特異的な血管増殖遺伝子の発現が抑制された。片岡一則らはウイルス発がんの治療を考えた場合、ウイルスの発がん分子に特異的な siRNA を封入する高分子ミセルを用いることによりがんの増殖を抑制できると考えている。現在、5 つの大学との共同研究が進行中である¹²⁾。

(2) 社会経済への波及と展望

①臨床試験の状況

高分子ミセル内包抗がん剤 5 品目の国内及び海外での開発状況は以下の通りである：

(i) 抗がん剤品目 (PI：フェーズ I 臨床試験、PII：フェーズ II 臨床試験、PIII：フェーズ III 臨床試験)

-パクリタクセル：日本とアジアで再発乳がんを対象に PIII に入った。胃がんでも PIII

⁴⁵ polyplex とは DNA や RNA とカチオン性ポリマーの複合体のことで、本研究の場合 mRNA とポリアスパラギン酸の複合体である。

を予定。日本化薬株式会社がライセンスを受けて開発中で 2017 年 7 月の申請予定。

-シスプラチン : 2013 年 7 月より Orient Europharma 社が台湾、香港、シンガポールですい臓がんを対象に PIII 開始。米国では肺がんを対象に PII、日本では頭頸部がんを対象に PI。ナノキャリア株式会社が NC-6004 のコード名で開発中。

-イリノテカン(SN-38) : 米国で大腸がんを対象に PII。日本化薬株式会社が開発中。

-ダハプラチン : 米国(テキサス州 MD アンダーソン病院)ですい臓がんを対象に PII。ナノキャリア株式会社が開発。

-エピルビシン : 日本で PI、興和株式会社がライセンスを受けて治験を実施中。

②実用化による難治性疾患患者の救済

臨床試験に入っている各抗がん剤高分子ミセルは血中での安定性と長い滞留時間、がん細胞への高濃度での蓄積など元の抗がん剤より優れた特徴を有しより優れた治療効果が期待できる。また、高分子ミセルは安全性の高い素材から構成されており、副作用の程度は低いと考えられる。これらの抗がん剤内包高分子ミセル剤の治療成績は PIII 試験の結果を待たなくてはならないが、承認された場合はがん患者にとって大きなメリットとなる。

一方、治療の難しい脳腫瘍やがん幹細胞に対してはより特異的に標的を捉える必要があり、インテグリンや抗体を使ったターゲティング技術を組み込み、治療効果を高めることが計画されている。また、mRNA、miRNA、DNA、siRNA なども高分子ミセルに内包させることにより安定性が飛躍的に改善される。また、高分子ミセル技術はアルツハイマー病などの難病の治療にも応用できる可能性があり多くの患者に対して新たな治療法を提供することができる。

③薬事承認と開発戦略

臨床試験中の 5 品目においては、薬効成分は既承認の抗がん剤であり、PEG やポリアミノ酸も薬剤に加えることが承認されており、それぞれについての安全性は担保されている。しかし、抗がん剤を内包する高分子ミセル製剤は、抗がん剤化合物とポリマー分子の間でゆるい化学結合が存在することから新規化合物であり、新医薬品(新薬)と定義されるため通常の新薬と同等の開発プロセスが求められる。本剤の場合、既存の毒性データなどが利用できることから全くの新薬より有利でありさらに革新的な技術による高い治療効果に見合う薬価が期待される。

④国際競争力の強化など

(i) 抗がん剤市場への参入

臨床試験を実施中の上記 5 品目の抗がん剤は世界中でがん治療に汎用されている主要品目である。抗がん剤内包高分子ミセル剤の開発が成功すると、大きな売上が期待できる。高分子ミセル技術は日本発の技術による画期的な製剤で、基本特許も保有し、強い国際競争力を備えている。

(ii) 抗体との複合体の大きなポテンシャル

世界の主要医薬品メーカーはがん治療のための抗体医薬を開発上市してきたが、対象患者が限定されかつ高価なため今後は抗がん剤と抗体の複合体の開発を模索している。高分子ミセルの場合、抗体をがん細胞のターゲティングに応用することにより特異性が高く薬効の強力な抗体-高分子ミセル剤複合体の作製が可能となる。

(iii) ガイドライン作成による世界標準へ

高分子ミセル医薬品製造のための新しいガイドラインを制定するために日本(PMDA)と欧州医薬品庁(EMA)が主体となり作業が進んでいる。すでに、日本側から提案したガイドライン原案に対してEMAの賛同がえられ、HPに掲載してオープンコメントに供しており、将来、日本発の世界標準が制定される見込みである。

(iv) 新たな技術融合センターの計画

川崎市の羽田空港の対岸地域に、医療を主体とする国際戦略特区が計画されており、そこに「ものづくりナノ医療イノベーションセンター(iCON)」を新たに作る事が決まった。国内、海外の研究機関や企業などを横断的に融合させて最先端の医療技術の開発を行い製品化へ繋げるイノベーションの核になることをめざしており片岡一則らが計画を主導している¹⁶⁾。

⑤ 高分子ミセルの医薬品以外への用途展開

高分子ミセルの医薬品以外への用途展開としてミセル化技術を使ってポリフェノール系成分の抗酸化作用を保持させることにより肌になじみやすい化粧品に仕上げた。アルビオン社から2013年10月に発売される(株式会社ナノキャリア HP より)。

4.2 まとめ

2 研究課題とも、本研究領域終了後 FIRST の大型資金支援をうけてさらに研究を加速させ、世界をリードする高い成果をあげ、確実に実用化へのステップを進めている。

岡野らの再生医療の実現をめざした細胞シートの研究では以下の科学技術的成果が得られた。

- ・細胞シートから立体的な組織を形成させ、立体構造を維持するための脈管形成技術の開発
- ・iPS 細胞の大量培養、目的細胞への分化誘導技術の開発、細胞シート作製
- ・細胞シートの大量供給のための自動化装置の開発

細胞シートを治療に用いる場合、細胞シートを貼り付ける組織再建と代替臓器を作製し装着する 2 つの方式が考えられるが、前者については既に多くの実用化試験が国内と海外で進められ、後者も基本的な手法ができつつある。その一方で、我国から生まれた iPS 細胞と細胞シート技術をタイムリーに国民に届けるために、再生医療推進法が成立し再生医療製品の迅速な許認可や委託事業を可能とする法整備がされつつあり、再生医療を加速するための重要な環境整備が進められている。

片岡らの高分子ミセルを用いるナノ DDS の研究は実用化へ向かって大きな前進を見せた。

- ・抗がん剤内包高分子ナノミセルが自然発生すい臓がん動物モデルで優れた治療効果を示し作用機構が解明された。
- ・抗体などとの複合による標的へのターゲティングについての研究が進んだ。
- ・高分子ミセルによる核酸系化合物の安定化に成功し、遺伝子治療のための基盤ができつつある。

など、高分子ミセルの優れた利点と応用範囲の広さが示された。

また、世界で汎用されている主要抗がん剤の高分子ミセル剤についての臨床試験が国内・海外で進行中であり、副作用の軽減と高い治療効果が期待される。さらに核酸系化合物の高分子ミセル剤や抗体と高分子ミセルの結合により、難治性がん、アルツハイマー病などの難病への遺伝子治療やターゲティング療法が可能となると期待される。

本研究領域での基礎研究を基に大きく発展してきたこれらの技術は、我国の医療及び科学技術にインパクトのあるイノベーションを引き起こすものと思われる。そのベースになったのは

- ・医療の大きなニーズに着目したこと
- ・医学と工学の連携による新たな相乗的な価値が創造されたこと
- ・徹底的に実用化へこだわったこと
- ・集中的な研究投資がなされたこと

などをあげることができる。また、研究成果に関する知的財産権を固めることで、国際競争力のあるプラットフォーム技術として今後世界をリードすることが期待される。

[引用文献等]

- 1) Sekine H, Shimizu T, Hobo K, Sekiya S, Yang J, Yamato M, kurosawa H, Kobayashi E, Okano T, “Endothelial cell coculture within tissue-engineered cardiomyocyte sheets enhances neovascularization and improves cardiac function of ischemic heart”, *Circulation*, 60, 277-285, (2008)
- 2) Haraguchi Y, Shimizu T, Sasagawa T, Sekine H, Sakaguchi K, Kikuchi T, Sekine W, Sekiya S, Yamato M, Umezu M, Okano T, “Fabrication of functional three-dimensional tissues by stacking cell sheets in vitro”, *Nature Protocols*, 7, 850-858, (2012)
- 3) Matsuura K, Wada M, Shimizu T, Haraguchi Y, Sato F, Sugiyama K, Konishi K, Shiba Y, Ichikawa H, Tachibana A, Ikeda U, Yamato M, Hagiwara N, Okano T, “Creation of human cardiac cell sheets using pluripotent stem cells”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 425, 321-327, (2012)
- 4) Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, Dobashi I, Wada M, Yamato M, Kobayashi E, Umezu M, Okano T, “In Vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels”, *Nature Communications*, 4, 1399, (2013)
- 5) Sakaguchi K, Shimizu T, Horaguchi S, Sekine H, Yamato M, Umezu M, Okano T, “In vitro engineering of vascularized tissue surrogates”, *Scientific Reports*, 3, 1316, (2013)
- 6) 朝日新聞 2013. 3. 4 「血管通し丈夫な心筋シート 東京女子医科大学のチームが作製」、日刊工業新聞 2013. 3. 13 「東京女子医科大学と早稲田大学、細胞シートに血管網形成ーコラーゲンゲルで血管床」
- 7) FIRST 岡野プロジェクト平成 25 年度パンフレット
http://twins.twmu.ac.jp/first/img/FIRST_OKANO_pamph_new.pdf
- 8) 読売新聞 2013. 3. 21 「細胞シート量産へ光ー痛んだ臓器ピタッと治す」
- 9) 日本経済新聞 2013. 4. 26 「再生医療推進法が成立、iPS 細胞の実用化促進」、2013. 5. 24 「再生医療、関連 2 法案を閣議決定 実用化後押し」
- 10) 日本経済新聞 2013. 1. 9 「iPS 細胞から移植用シート、臨床研究本格化」
- 11) Cabral R J, Matsumoto Y, Mizuno K, Chen Q, Murakami M, Kimura M, Terada Y, Kano M R, Miyazono K, Uesaka M, Nishiyama N, Kataoka K, “Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumors depends on size”, *Nature Nanotechnology* 6, 815-823, (2011)
- 12) Christie RJ, Matsumoto Y, Miyata K, Nomoto T, Fukushima S, Osada K, Halnaut J, Pittella F, Kim HJ, Nishiyama N, Kataoka K, “Targeted Polymeric Micelles for siRNA Treatment of Experimental Cancer by Intravenous Injection”, *ACS Nano*, 6, 5174-5189, (2012)
- 13) Uchida S, Itaka K, Uchida H, Hayakawa K, Ogata T, Ishii T, Fukushima S, Osada K, Kataoka K, “In Vivo Messenger RNA Introduction into the Central Nervous System Using Polyplex Nanomicelle”, *PLOS ONE*, 8, e56220, (2013)
- 14) Cabral R J, Murakami M, Hojo H, Terada Y, Kano M, Chung U, Nishiyama N, Kataoka

- K, “Targeted therapy of spontaneous murine pancreatic tumors by polymeric micelles prolongs survival and prevents peritoneal metastasis”, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 110 11397-11402, (2013)
- 15) 東京大学/NanoBio プレスリリース 2013. 6. 24 「ナノ DDS で難治膵臓がんの標的治療に成功：効果を遺伝子改変マウス(自然発症膵臓がんマウス)で実証」及び新聞各紙(朝日、毎日、日経など)が関連報道 2013. 6. 25
 - 16) Science/AAAS August 2, 2013 に紹介記事「Launch of the innovation Center OF Nanaomedicine」