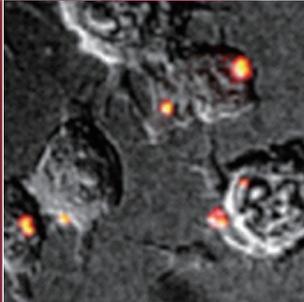




Institute for Innovative NanoBio
Drug Discovery and Development



第4回 ナノバイオ創薬研究 シンポジウム



2013年3月9日(土)

京都大学大学院医学研究科 杉浦ホール

第4回 ナノバイオ創薬研究シンポジウム

2013年3月9日(土)
京都大学大学院医学研究科 杉浦ホール

プログラム

ご挨拶

13:00~13:10 佐治英郎 (京都大学大学院薬学研究科 研究科長)

研究報告

座長 橋田 充 (京都大学大学院薬学研究科・教授)

13:10~13:30 ウイルス感染における自然免疫の役割

高橋清大 (革新的ナノバイオ創薬研究拠点 特定助教)

13:30~13:50 押圧/吸引圧を利用した *in vivo* 核酸導入法への MEMS 応用

清水一憲 (革新的ナノバイオ創薬研究拠点 特定助教)

13:50~14:10 PEG 脂質を利用した細胞膜表面修飾法の開発

樋口ゆり子 (革新的ナノバイオ創薬研究拠点 特定助教)

14:10~14:20 休憩

講演

座長 高倉喜信 (京都大学大学院薬学研究科・教授)

14:20~15:00 インシリコ薬物動態による創薬研究の加速化

山下富義 (京都大学大学院薬学研究科 准教授)

15:00~15:40 ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型による病原性発現メカニズム

安永純一郎 (京都大学ウイルス研究所 講師)

15:40~16:20 培養系・全身系生体解析へのマイクロ・ナノマシン技術の応用

小西 聡 (立命館大学理工学部 教授)

16:20~16:40 休憩

特別講演

座長 掛谷秀昭 (京都大学大学院薬学研究科・教授)

16:40~17:30 多糖ナノゲル工学によるタンパク質 DDS の開発

秋吉一成 (京都大学工学研究科高分子化学専攻 教授)

懇親会 17:40 ~ 19:00 (京都大学大学院医学研究科 杉浦地域医療研究センター 1F)

主催：京都大学大学院薬学研究科 革新的ナノバイオ創薬研究拠点

後援：立命館大学 立命館グローバル・イノベーション研究機構

ご あ い さ つ

「第4回 ナノバイオ創薬研究シンポジウム」にご参加を賜わり、ありがとうございます。

革新的ナノバイオ創薬研究拠点は、京都大学薬学研究科、ウイルス研究所、立命館大学理工学部のそれぞれが独自に築き上げてきた先端技術を融合し、革新的創薬を目指して研究を推進してまいりました。本拠点が設立されてから4年目を迎え、本拠点専任の若手研究者、京都大学および立命館大学の研究者が参加して共同で進める研究プロジェクトも順調に進んでおります。

本シンポジウムでは、京都大学工学研究科高分子化学専攻の秋吉一成先生に「多糖ナノゲル工学によるタンパク質 DDS の開発」について特別講演をいただくとともに、ウイルス研究所、立命館大学から参画を得ている兼任教員からの報告、さらに本拠点専任の特定助教からの研究成果の報告を企画しています。

京都大学大学院薬学研究科が掲げる、「先端的創薬科学・医療薬学研究の推進による人類の健康と社会の発展への貢献」の理念のもと、本拠点も益々発展し、今後の創薬研究に貢献できるよう努めて参りますので、今後とも本拠点の活動にご理解とご支援を賜りますようお願い申し上げます。

革新的ナノバイオ創薬研究拠点 拠点長
佐治 英郎
(京都大学薬学研究科長)

ウイルス感染における自然免疫の役割

京都大学大学院薬学研究科
革新的ナノバイオ創薬研究拠点
特定助教 高橋 清大

我々の体はウイルス感染に際し、免疫機構を用いてウイルスの排除を行う。自然免疫は初期の免疫機構であり、ウイルスやバクテリアに共通して見られる分子を認識することで誘導されるものである。ウイルスが感染すると、生体はウイルスが持つ特殊な構造を持つ RNA をセンサータンパク質により認識する。その結果、細胞内シグナル伝達が行われ、抗ウイルス作用を持つサイトカインの一種である I 型インターフェロン (IFN) が誘導され、ウイルスの排除が開始される。RIG-I (Retinoic Acid-Inducible Gene 1) はウイルス RNA を特異的に認識する事で I 型 IFN を誘導するセンサータンパク質として発見された。RIG-I はウイルスに特異的に見られる RNA に結合すると CARD (Caspase Recruitment Domain) と呼ばれるドメインを提示し、ここに IPS-1 (Interferon-beta promoter stimulator protein 1) と呼ばれるやはり CARD を持つ分子が CARD どうしの相互作用で結合することで下流へとシグナル伝達が行われる。IPS-1 はシグナル伝達の足場となるタンパク質であり、様々なシグナル伝達タンパク質の結合領域を持つ。本研究では、IPS-1 のシグナル伝達における機能解明を目的に研究を行った。

本研究では、まず IPS-1 がウイルス感染に際したとき、いかにして活性化されるかを明らかにした。その結果、IPS-1 は RIG-I との結合に際し、多量体化が誘導されることが明らかとなった。また、この多量体化には CARD ドメインと膜貫通ドメインが必要であることがわかった。そこで、我々は IPS-1 を人為的に活性化させる系を作成し、これを用いて IPS-1 の機能解明を行った。これには FKBP (FK506 binding protein) を用いる系を使用した。FKBP は AP20187 を介することで、二量体を形成することが知られている。そこで IPS-1 のアミノ末端に三回繰り返した FKBP をつけた融合タンパク質を作成し、これを HELA 細胞に導入し、安定発現株を作成した。この FKBP-IPS-1 は細胞に AP20187 を加えることで、人為的に多量体化し、I 型 IFN や I 型 IFN 誘導遺伝子を活性化させられることが示された。これは人為的にウイルス感染のシグナル伝達を活性化させられる系である。この系を用い、我々は様々な変異体を作成し、シグナル伝達に必要な領域の決定を行った。本報告では、これにより得られた IPS-1 の活性化機構について報告する。

押圧/吸引圧を利用した *in vivo* 核酸導入法への MEMS 応用

京都大学大学院薬学研究科
革新的ナノバイオ創薬研究拠点
特定助教 清水 一憲
(兼：立命館大学 R-GIRO 客員研究員)

革新的ナノバイオ創薬研究拠点では京都大学薬学研究科と立命館大学理工学部の連携による革新的創薬研究を推進している。本講演では、連携研究の一つとして進めている *in vivo* 核酸導入法への Microelectromechanical systems (MEMS, マイクロマシン) の応用研究について現在の進捗を紹介する。

In vivo 核酸導入法は、生体内の目的組織や臓器の細胞の遺伝子発現をコントロールするための技術である。安全で簡便な *in vivo* 核酸導入法を開発することで、難治性疾患治療を目指した遺伝子治療法の開発や動物個体レベルでの遺伝子機能解析技術の開発の早期実現が期待される。現在までに様々な *in vivo* 核酸導入法が報告されているが、特にネイキッド核酸を用いた手法は安全性、簡便性の双方で優れていると考えられる。我々のグループでは独自に開発した *in vivo* ネイキッド核酸導入法である組織押圧核酸導入法(押圧法)(1-3)にMEMSを応用する研究開発を進めてきた(4-6)。本講演ではその最新の成果を紹介したい。

- (1) H. Mukai *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Comm., vol.372, pp.383-387, 2008.
- (2) H. Mukai *et al.*, Hum. Gene Ther., vol.20, pp.1157-1167, 2009.
- (3) H. Mukai *et al.*, Biol. Pharm. Bull., vol.33, pp.1627-1632, 2010.
- (4) K. Shimizu *et al.*, J. Control. Release, vol.159, pp.85-91, 2012.
- (5) K. Shimizu *et al.*, PLoS ONE, vol.7, e41319, 2012.
- (6) K. Shimizu *et al.*, Sens. Actuat. B, vol.156, pp.486-493, 2011.

PEG 脂質を利用した細胞膜表面修飾法の開発

京都大学大学院薬学研究科
革新的ナノバイオ創薬研究拠点
特定助教 樋口ゆり子

生体内における恒常性の維持や病態の進行には多くの細胞が関与し、細胞間コミュニケーションを介して、必要に応じて特定部位へ細胞を遊走させたり、目的の細胞への分化を進行したりしている。したがって、生体内における細胞の分布や分化などの挙動を評価し、最終的に人工的に制御することは、治療メカニズムの解明や新たな治療法の開発において極めて重要である。また、近年、多分化能を有する間葉系幹細胞、iPS 細胞や ES 細胞などの研究が進み、これらを用いた治療法にも期待が寄せられており、生体外から移植された細胞の挙動の制御に関しても関心が高まっている。

細胞の挙動を制御する方法の一つに、細胞膜表面への人工的な機能分子の修飾がある。その方法論を大別すると、遺伝子導入による機能分子の細胞膜表面への発現誘導、細胞膜表面に発現する分子の特定の官能基に対する化学結合を利用した化学修飾、ポリマーや脂質の細胞膜表面との相互作用を利用した非共有結合による表面修飾などが挙げられる。治療への応用を考慮すると、ポリマーや脂質を利用した細胞膜表面修飾法は、修飾量が遺伝子発現効率に左右されない点、非特異的な化学反応による細胞の機能への影響を受けない点、操作が簡便である点から有用であると考えられる。

PEG-脂質を含む培養液中で細胞を培養すると、PEG-脂質が細胞膜と相互作用することが知られている。我々は、まず PEG-DSPE に fluorescein を結合させて合成した DSPE-PEG-fluorescein (DSPE-PEG-FL)を用いて間葉系幹細胞の細胞膜表面を修飾し、修飾量を左右する要素についての検討を行ったところ、濃度、処理時間、温度が重要であることが明らかとなった。また、DSPE-PEG-FL で細胞膜表面を修飾した間葉系幹細胞を DSPE-PEG-FL を含まない血清含有培地に交換して 37°C で転倒混和したところ、8 時間後も培地交換直後の約 50% の DSPE-PEG-FL が細胞表面に残っていた。しかしながら、細胞膜表面を十分に修飾するためには、高濃度の PEG-DSPE を含む培養液中で長時間処理する必要があることも明らかとなった。そこで、超音波照射やシクロデキストリンの添加により、短時間で、低濃度の DSPE-PEG-F で細胞膜表面を修飾できる方法を新たに開発した。この方法を用いて、細胞膜表面への DSPE-PEG-FL の修飾量が異なる間葉系幹細胞を調製することも可能となった。さらに、細胞膜表面への DSPE-PEG-FL の修飾量が異なる間葉系幹細胞を用いて、血管内皮細胞との接着量を比較したところ、修飾量の増大にともない接着が抑制された。本講演では、PEG-DSPE を用いた細胞膜表面修飾法の改善とその応用について紹介する。

MEMO

インシリコ薬物動態による創薬研究の加速化

京都大学大学院薬学研究科
准教授 山下 富義

薬物の体内動態は、吸収、分布、代謝、排泄から構成され、各速度過程によって標的部位をはじめ各組織における薬物濃度の推移が決定される。そのため体内動態は薬物の有効性および安全性と密接に関連し、実際に医薬品候補が臨床開発の中止を余儀なくされる大きな理由となっている。医薬品探索研究では、こうした医薬品開発後期での失敗を減らすために、ミクロソーム代謝実験など *in vitro* スクリーニング法により、化合物の薬物動態特性を把握し、有望な候補化合物のみをステージアップさせるというアプローチが採られている。ここでは、大量のデータの中から如何に効果的に必要な情報を抽出するかが鍵となり、データマイニングに係るインシリコ技術の確立が不可欠となっている。一方、有効性および安全性は最終的には全身レベルで議論されるべきであり、*in vitro* 情報から *in vivo* 動態、さらには個体間変動を予測するモデリング&シミュレーション技術が重要となる。本講演では、インシリコ薬物動態研究の推進にあたり、演者が開発に取り組んできた技術について紹介したいと思う。



山下 富義

京都大学大学院 薬学研究科 薬品動態制御学分野

准教授

博士（薬学）（京都大学）

【略 歴】

昭和 63 年 京都大学薬学部卒業
平成 2 年 京都大学大学院薬学研究科 修士課程修了
平成 3 年 京都大学大学院薬学研究科 博士後期課程中退
平成 3 年 京都大学薬学部 助手
平成 7 年 南カリフォルニア大学薬学部 博士研究員（～平成 8 年 11 月）
平成 9 年 京都大学大学院薬学研究科 助手
平成 9 年 京都大学大学院薬学研究科 助教授
平成 19 年 京都大学大学院薬学研究科 准教授（改称）
現在に至る

【研究分野】

薬物動態学, DDS

【研究活動】

日本薬剤学会 評議員（2001-），日本薬学会構造活性相関部会 幹事（2006-2008），常任幹事（2008-），創剤フォーラム 世話人（2010-），日本 DDS 学会 評議員（2010-）
Pharmaceutical Research Editorial Advisory Board（2005-）
Drug Metabolism and Pharmacokinetics Editorial Advisory Board（2006-）

【受賞】

日本薬剤学会旭化成製剤学奨励賞（2001），日本薬物動態学会奨励賞（2003），
日本薬学会薬学研究ビジョン部会賞（2004）

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型による病原性発現メカニズム

京都大学ウイルス研究所
講師 安永 純一郎

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1) は CD4 陽性 CD25 陽性 T リンパ球の悪性腫瘍である成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) や、HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1 associated myelopathy: HAM)、ぶどう膜炎 (HTLV-1 uveitis: HU) 等の炎症性疾患の原因ウイルスである。ATL は HTLV-1 感染から平均 60 年に及ぶ潜伏期間の後、感染細胞がモノクローナルに増殖、がん化し発症する。HTLV-1 は自身のプロウイルス内に複数の制御遺伝子、アクセサリ遺伝子をコードしているが、中でも Tax 蛋白は強力なオンコプロテインであることが知られている。しかしながら約 6 割の臨床症例では Tax は発現しておらず、その意義は明らかではなかった。一方、HTLV-1 のマイナス鎖にコードされる HTLV-1 bZIP factor (HBZ) は全ての ATL 症例で発現が認められ、さらに T 細胞の増殖作用を有することから、発がんに必要な分子であることが示唆されている。現在までの解析結果から、Tax と HBZ は共に発がん機能を有するものの、様々なシグナル伝達経路において拮抗的に作用することが明らかになっており、複雑に干渉しつつ発がんに関与すると考えられる。

本講演では、HTLV-1 が細胞を発がんに導く分子機序について現在までの成果を中心に概説する。



安永 純一郎
京都大学 ウイルス研究所 ウイルス制御研究領域
講師
医学博士（熊本大学）

【略 歴】

平成 7 年 熊本大学医学部卒業
平成 15 年 熊本大学大学院医学研究科修了
平成 15 年 日本学術振興会・特別研究員
平成 15 年 京都大学ウイルス研究所・助教
平成 19 年 米国国立衛生研究所・博士研究員
平成 22 年 京都大学ウイルス研究所・講師
現在に至る

【研究分野】

ウイルス学、血液腫瘍学

【研究活動】

American Association for Cancer Research Young Scientist Award (2003)

医培養系・全身系生体解析へのマイクロ・ナノマシン技術の応用

立命館大学理工学部

教授 小西 聡

生体现象の解明と理解は、サイエンスとしても創薬や診断治療といった医療健康応用の観点からもその重要性が増している。その背景として、ライフサイエンスの手段、ツールとしての科学技術の急速な発展が一つの大きな材料となっているといえる。様々な工学的手段がライフサイエンスの分野に持ち込まれ、生体の観察、計測や解析、さらには操作、刺激に用いられている。革新的ナノバイオ創薬研究拠点活動においても、我々は薬学と工学の連携による新しい知見の創出を狙って研究活動を展開してきている。この間、MEMS という技術を用いた様々なマイクロ・ナノマシンをバイオメディカル分野に応用する研究活動を続けている。各種細胞チップや神経刺激記録電極、内視鏡診断治療デバイス、DDS デバイス等々。社会を情報化社会に一変させるのに半導体チップ（コンピュータ）が一役買ったのと同様に、MEMS は、マイクロ、ナノメートルとサイズは小さくとも、今や大きな仕事が期待される存在となっている。MEMS は、電気や機械その他物理的なものだけでなく流体や生化学と様々な対象を扱うこともできる点で、異分野融合のキーテクノロジーの申し子とっていいのではないだろうか。今回は、生体分析、解析の観点から話題を提供したい。

生体というシステムの解析において、個体における現象、反応をそのまま解析する全身系に対し、*in vitro* で細胞培養組織等を用いる培養系がある。全身系には、健康診断等も含め、生体標本分析、解析の例として我々の血液分析に関する研究活動を紹介したい。培養系については、バイオ分野、特に再生医療と関わる研究分野における幹細胞研究の目覚ましい成果を受け、さらに研究が加速している。遺伝子、プロテオーム、細胞と次第にその対象を高次なものと移す中で、MEMS もバイオ MEMS、 μ TAS といった分野が大きく発展し、現在は細胞組織の話題が大きな関心となっている。

目的に応じて抽出したモデルとしての培養系による解析と個体全体としての入出力による全身系の解析は、それぞれが重要性と役割をもつ。薬学等の研究開発でも *In vitro* での評価結果に基づき、*ex vivo*、*in vivo* による生体評価へと進み、それぞれの特徴を活かした使い方がなされている。今年度より立命館大学では、「ものづくり科学技術で興す医療・健康イノベーション拠点」（拠点長：小西）を総長を機構長とする R-GIRO のもと立ち上げている。国内外研究機関とのグローバル連携を目指し、MEMS をはじめとする新しい概念の工学をキーテクノロジーとしたライフサイエンス研究を推進していく計画であり、その活動についても紹介したい。



小西 聡

立命館大学 理工学部 機械工学科 教授
バイオメディカルデバイス研究センター長
博士（工学、東京大学）

【略 歴】

1991年 東京大学工学部電子工学科卒業、1996年 東京大学大学院工学系研究科博士課程修了。博士（工学）。

1993年 日本学術振興会特別研究員。

1996年 立命館大学理工学部専任講師、1999年 同助教授、2006年 同教授、現在に至る。

2002年 カリフォルニア工科大学研究員。

2007年 滋賀医科大学客員教授、2008年 京都大学薬学系研究科連携教授 兼任、現在に至る。

2011年 ブリュッセル自由大学客員教授。

【研究分野】

MEMS、マイクロマシンとその応用。バイオメディカル応用を重視。

【研究活動】

1990年代初めより MEMS に関する研究に従事。生体を意識した MEMS の研究がライフワーク。現在は、MEMS のバイオメディカル応用研究を重視し、細胞から全身まで生体とのマルチスケールインタフェースに関する研究活動を展開している。バイオチップのみならず MEMS デバイスの中では、学術的要素の強いマイクロアクチュエータの研究を好み、本プロジェクトでもドラッグデリバリーへの応用に意欲的に取り組んでいる。電気学会、日本機械学会、応用物理学会、日本ロボット学会、炭素材料学会、コンピュータ外科学会、IEEE などの正会員。関連学会の各種委員を歴任。

国際的には、Board member of JMM (Journal of Micromechanics and Microengineering) および Sensors and Actuators A, International Steering Committee Member of Transducers および IEEE International Conference of MEMS (2007 実行委員長)。

'05年 日本コンピュータ外科学会 2005 年度講演論文賞、'07年 日刊工業新聞社モノづくり連携大賞特別賞、'10 IEEE EDS Kansai Chapter of the Year Award 等の賞を受賞。

多糖ナノゲル工学によるタンパク質 DDS の開発

京都大学大学院工学研究科

JST ERATO

教授 秋吉 一成

近年、抗体、サイトカイン、抗原タンパク質などの生理活性タンパク質が様々な疾患の治療に用いられている。薬剤としてのタンパク質の徐放制御と細胞内に効率よくデリバリーする技術の開発は益々重要となってきた。タンパク質キャリア開発において解決すべき重要な課題のひとつは、不安定なタンパク質の失活・凝集抑制である。生体においては、タンパク質のフォールディングを制御し、その生理機能を制御する分子シャペロンが存在している。我々は疎水化多糖からなる自己組織化ナノゲルが分子シャペロン機能を発現することを見いだした。疎水化多糖ナノゲルは、変性タンパク質を疎水的な会合力により選択的に捕まえることで不可逆的な凝集を抑制し、ナノゲルからの放出によりタンパク質機能が回復しえた。シャペロン機能は次世代タンパク質デリバリーにおいて重要な概念である。一方、ナノゲルをビルディングブロックとしたボトムアップゲル製造技術により、骨再生などの再生医療用のナノゲル基盤ヒドロゲル材料を開発している。本講演では、多糖ナノゲルを基盤とした DDS 用バイオマテリアルの創成と医療応用について紹介する。

癌ワクチンによる癌免疫療法は、副作用が少ないこと、長期にわたり癌細胞の増殖、再発、転移の抑制が可能であることなど他の治療法にはない特長を有している。ワクチン療法では、癌細胞や感染細胞が特異的に発現する抗原タンパク質をマクロファージや樹状細胞に、いかに効率よくデリバリーするかが重要である。さらに、キラーT細胞を誘導するためには、運んだ抗原タンパク質が細胞質に放出されプロテアソームにより分解される必要がある。コレステロール置換プルラン(CHP)ナノゲルが種々の抗原タンパク質をシャペロン機能により効率よく取り込んで安定なナノ微粒子を形成することを利用して、タンパク質癌ワクチンの製剤化に成功した。HER2 や NY-ESO-1-ナノゲル癌ワクチンの臨床試験を行ったところ、抗体産生のみならず、抗腫瘍性のキラーT細胞が効率よく誘導された。特に、食道癌の患者に対しては優れた治療効果も得られることが明らかになり、現在、実用化に向けた治験が進んでいる。

カチオン性基を導入した多糖ナノゲルは、次世代ワクチンとして期待されている経鼻ワクチンのナノキャリアとして優れていることを見いだした。毒素関連タンパク質等の粘膜アジェバントを使用せずに、生体にワクチン抗原特異的な免疫応答を誘導し得る粘膜ワクチンである。また、種々の塩基性分子を導入した両親媒性多糖ナノゲルは、遺伝子、CpG、siRNA などの核酸キャリアとしても有用であった。



秋吉 一成
京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻
教授
工学博士（九州大学）

【略 歴】

- 1980 年 九州大学工学部合成化学科卒業
- 1985 年 九州大学大学院工学研究科合成化学専攻博士課程修了
- 1985 年 米国 Purdue 大学化学科博士研究員
- 1987 年 長崎大学工学部工業化学科講師
- 1989 年 京都大学工学部高分子化学科助手
- 1993 年 京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻助手
- 1993 年 京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻助教授
- 1997 年 仏国、ルイ・パスツール大学客員助教授
- 1999 年 科学技術振興事業団さきがけ研究 2 1 「組織化と機能」研究員兼任
- 2002 年 東京医科歯科大学生体材料工学研究所素材研究部門有機材料分野 教授
- 2005 年 東京工業大学精密工学研究所、客員教授(2007 年まで)
- 2010 年- 京都大学工学研究科高分子化学専攻生体機能高分子分野 教授
- 2011 年- JST-ERATO 秋吉バイオナノトランスポータープロジェクト 研究総括兼任
現在に至る

【研究分野】

生体機能高分子、バイオマテリアル、ドラッグデリバリーシステム、再生医療、
機能性ゲル、糖鎖工学、リポソーム工学、膜タンパク質工学

【研究活動】

高分子学会, 理事、バイオマテリアル学会, 評議員、DDS 学会, 評議員、膜学会, 評議員
日本化学会
日本化学会、若い世代の特別講演賞(1994) 高分子学会賞(1998)
2001 Barre Lecturer Awards, the University of Montreal, Canada (2001)

発行：平成 25 年 3 月 9 日

編集：京都大学大学院薬学研究科

革新的ナノバイオ創薬研究拠点