

令和 3 年 4 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H06314

研究課題名(和文) 広範囲な生体内部位にウイルス並に感染する汎用型ネオ・バイオナノカプセルの創製

研究課題名(英文) Development of Neo-bionanocapsule for Various In Vivo Targets

研究代表者

黒田 俊一 (KURODA, SHUN'ICHI)

大阪大学・産業科学研究所・教授

研究者番号：60263406

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 140,600,000円

研究成果の概要(和文)：天然のDDS(薬物送達)ナノキャリアであるウイルスが進化の過程で獲得した(1)免疫系による排除機能から逃げる強力なステルス能、(2)目的臓器・細胞への高い能動的標的化能、(3)目的細胞内への効率的な侵入能、(4)薬剤が薬効を発揮するための細胞質内移行能などを担う機能ドメインを同一し、これらの能力を併せ持つ「薬剤の生体内時空間的制御を精密に行うDDSナノキャリア」の開発を行った。また、標的化分子の効率的選抜法、キャリア表面への精密提示法などの関連技術の開発も行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤の副作用を極力抑えつつ最大の治療効果を示すために、生体内で薬剤の時空間的制御を行うDDSナノキャリアが多数開発されているが、(1)ヒト免疫系による排除を回避して、(2)目的臓器や細胞に効率よく到達し、(3)目的細胞内に効率的に侵入して、(4)薬効発揮の場である細胞質内に薬剤を移行させる全ての能力を併せ持つものはない。本研究成果は、ウイルスの解析を通して、全ての能力を有するDDSナノキャリアを初めて開発した点に学術的意義がある。また、本技術が実用化されれば、医療経済の改善にも大きく役立つ。

研究成果の概要(英文)：We have identified the functional domains that have been acquired by viruses (natural DDS (drug delivery system) nanocarriers) during the evolutionary process, such as 1) strong stealth to escape elimination by the immune system, 2) high active targeting to target organs/cells, 3) efficient entry into target cells, and 4) intracytoplasmic transfer of drugs to exert their medicinal effects. We have developed novel DDS nanocarrier with these capabilities for precise in vivo spatiotemporal control of drugs. In addition, we have developed related technologies, such as efficient selection method of targeted molecules and precise presentation methods on the carrier surface.

研究分野：細胞生物学 薬物送達学 ウイルス学 ナノバイオテクノロジー

キーワード：ナノメディスン ウイルス 全自動1細胞解析単離装置 能動的標的能 ステルス能 細胞内侵入能 ナノレベル精密整列化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

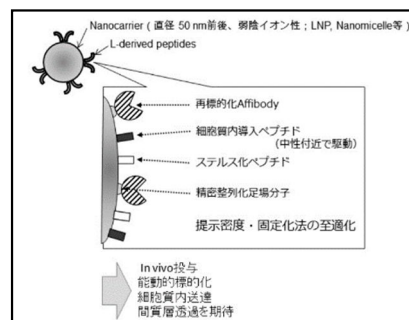
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬剤の副作用を極力抑えつつ最大の治療効果を示すために、生体内で薬剤の時空間的制御を行う DDS ナノキャリアが多数開発されてきたが、ヒト免疫系による排除を回避して、目的臓器や細胞に効率よく到達し、目的細胞内に効率的に侵入して、薬効発揮の場である細胞質内に薬剤を移行させる全ての能力を併せ持つものは研究開始時点で存在しなかった。

2. 研究の目的

研究代表者らは、B型肝炎ウイルス (HBV) が上記4能力を備えた天然の DDS ナノキャリアであり、2003年に同ウイルスの外殻 L タンパク質から構成される中空ナノ粒子 (バイオナノカプセル; BNC) が同様な能力を有する可能性が高いことを見出した。そこで、各能力を支える L タンパク質内の機能ドメインを同定し、人工の DDS ナノキャリア (リポソーム等) に移植し、ウイルス並みの能力を付与することを目指した (右図)。



3. 研究の方法

(1) DDS ナノキャリアとして、出芽酵母で作成した BNC やリポソームを使用した。L タンパク質に含まれる各機能ドメインの解析は合成ペプチドを提示したリポソームを使用した。In vitroでの細胞取り込み実験は、蛍光標識 DDS ナノキャリアを、主にヒト肝臓由来細胞に接触させて、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。試作 DDS ナノキャリアの In vivo (マウス)での動態評価は、主に近赤外蛍光色素を用いる非侵襲的観察により行った。(2) ナノ界面において機能ドメインの性能を 100%近く引き出すための精密整列提示法の評価は、QCM 法によるアフィニティ測定、高速 AFM による直接観察で行った。(3) 標的化分子の選抜には、標的化分子候補を提示する出芽酵母を、研究代表者が開発した全自動 1 細胞単離解析装置により 1 細胞単位で分析して行った。

4. 研究成果

(1) HBV のステルス化機構の解明:

L タンパク質の Pre-S2 領域に重合アルブミン結合ドメイン (LLDPRVRGL) が存在し、ナノキャリア表面に血中アルブミンを纏うことにより、免疫系細胞による捕捉から逃れることを見出した (高木ら 2021; 岡本ら 2018; 2016)。

同ウイルスのエスケープ変異体が S 領域の部位特異的変異により、免疫系からの認識が弱くなることも見出した (曾宮ら 2018)。

N 末端がミリスチル化された Pre-S1 由来ペプチド (Myr47) に、非特異的細胞内取り込みを阻害する活性があることを見出しており、新たなステルス化機構と考えられた (七原ら投稿中)。

(2) 新しい標的化機構の開発:

IgG により生体内標的化を行う Protein A 由来 Fc 結合ドメイン (Z) 融合 BNC (ZZ-BNC) に加え、IgM 等も提示できる Protein G 由来 Fc 結合ドメイン (G) および Protein L 由来 Fab 結合ドメイン (L) 融合 BNC (GL-BNC) を作成した (立松ら 2016)。

この GL-BNC は血液中イムノグロブリンにより重合し、生体内マクロファージへの積極的送達に有効であった (李ら 2018)。

BNC 表層に新しい標的分子として、レクチン分子 (飯嶋ら 2020) サイトカイン受容体 (飯嶋ら 2016) DNA アプタマー (飯嶋ら準備中) の提示に成功し、以下 (3) の技術により、いずれもほぼ完全に立体障害を排して 100%近い機能を発揮できるようにした。

(3) ナノレベル精密整列提示法の開発:

DDS ナノキャリア表面に標的化分子をランダムな方向性で固定するのは極めて非効率的な事を示し、BNC の有効性を証明した (飯嶋と黒田 2017)。

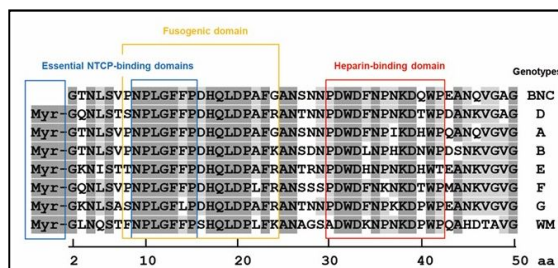
脂質 2 重膜 (リポソーム) ではなく、固相の DDS ナノキャリア表面にも BNC と同様に標的化分子を提示する新しい手法を開発した (飯嶋ら 2020)。

(4) HBV の細胞内侵入機構の解明:

多くのウイルスは、効率的な宿主細胞の標的化のために、まず低親和性分子間で仮認識を行い、次に高親和性分子間で本格的な認識を行う。

HBV は細胞表面 NTCP による高親和性認識の前に、ヘパリン依存性の低親和性認識が必要であることを示し（曾宮ら 2016）、HBV 上の担当ドメインを同定した（劉ら 2018；右図）。

細胞表面の低親和性分子の一部がスカベンジャー受容体（SR-B1）であることを見出し（小出ら 2021；藤田ら 2021）、その認識には特定の糖鎖構造が必須であることも見出した（高松ら 2016）。



（5）HBV の細胞質移行機構の解明：

エンドサイトーシスにより取り込まれた BNC (HBV も同様) は、エンドソーム膜と膜融合して内包物を細胞質に送出する必要がある。

今まで S 領域と Pre-S2 領域の 2 か所に膜融合ドメインが報告されてきたが、それらよりも強力なドメインを Pre-S1 領域に同定した。酸性条件で疎水性が上昇する新規膜融合ドメインで、BNC の強力な物質送達能に寄与することを示した（劉ら 2016；上図）。

光感受性色素と siRNA を包含した DDS ナノキャリアを作成し、外部からの光照射により、積極的かつピンポイントで siRNA 放出を可能にする方法を開発した（曾宮ら 2021；特許登録済）。

DDS ナノキャリア内包物の細胞質内送達をリアルタイムで効率よく定量する測定法を開発した（曾宮と黒田 2021）。

（6）In vivo での成果：

これまでに開発した基礎技術を駆使した DDS ナノキャリアを作製し、マウスで評価した。

免疫の中核を担う細胞である樹状細胞（DC 細胞）に、日本脳炎ウイルス抗原を包含した ZZ-BNC に抗 CD11c 抗体を提示させて、マウスに IV 投与したところ、B 細胞活性化（抗体産生誘導）のみならず、T 細胞活性化（細胞性免疫賦活化）も効率的に誘導し、飛躍的な感染防御の上昇が認められ、新しいワクチンとしての可能性が示された（松尾ら 2018）。

抗がん剤シスプラチンを包含した BNC を、ヒト肝がんを保持するマウスに IV 投与し、放射線療法を併用したところ、非投与群と比べて劇的にがん縮小効果が観察され、肝臓がんの新しい放射線併用薬剤治療の可能性が示された（Shin ら 2017）。

膜融合ペプチドを提示した BNC を、マウス子宮内に投与したところ、子宮体がん組織部に集中的に集積することが見いだされ、レポーター遺伝子の発現も確認され、新しい子宮体がんの薬剤・遺伝子治療の可能性が示された（小泉ら 2019）。

ビオチン標識したグラフトを大動脈内に留置されたマウスに、アビジン提示 BNC を IV 投与すると、速やかにグラフト周辺の大動脈組織に集積した。これは、再発を繰り返すグラフト設置済大動脈瘤患者に対する新しい再発予防法の可能性が示された（吉村ら 2020）。

自然免疫を担う TLR7 のリガンドである Resiquimod (R848) を含有するリポソームに抗 EGFR 抗体を提示させ、扁平上皮癌を有するマウスに IV 投与すると、がん微小環境でがん悪性を担う M2 マクロファージを、選択的にがん抑制を担う M1 マクロファージに再教育した後、ファゴサイトーシスを活性化して、がん縮小を促すことを示した。この、新しい戦略は今後の癌治療において有効である（李ら 2021）。

ZZ-BNC および GL-BNC の表面に抗体が整列提示することに着目し、既存の抗体医薬（例、トラスツマブ、セツキシマブ、カドサイラ）を BNC 表面に精密整列化させて、担癌マウスに IV 投与したところ、従来の約 10 分の 1 の抗体濃度で、同程度のがん縮小効果が認められた。これは、ナノレベルでの抗体整列化技術により、抗体医薬の標的細胞認識を飛躍的に高めたものであり、今後の抗体医薬開発の大きなヒントとなる（飯嶋ら 2019；特許申請済）。

（7）本研究の過程で開発された関連技術等：

BNC のカプセル構造形成には真核生物の小胞体膜が必要なため、BNC は大腸菌でなく出芽酵母で作成しているが簡便とは言い難い。そこで、BNC 欠失変異体を大腸菌で発現させたところ、大腸菌の脂質成分を取り込んで BNC 様粒子を形成することを見出した。ただし、発現量は少なく、物理的に不安定なため、その後の研究には使用していない（李ら 2017）。

ZZ-BNC はナノレベルで抗体整列化を達成するので、AFM のカンチレバーに ZZ-BNC を介して抗体を固定すると、抗体分子の方向性が揃う。そのため、従来難しかった抗体・抗原反応の 1 分子測定が容易になった（Kim ら 2020ab；川村ら 2017；2016）。

ZZ-BNC によるナノレベルでの抗体整列化に伴い、なぜ抗体全体の親和性（アビディティ）が上昇するのかを QCM を用いて解析した（野井ら 2020；2019）。

BNC と SR-B1 の相互作用解析の過程で、リポソームや BNC を哺乳類細胞（非マクロファージ細

胞も含む)がエンドサイトーシスで取り込むと、高い確率で脂肪滴が細胞内に形成することを見出した(藤田ら 2019)。また、それらの細胞は、栄養飢餓になってもアポトーシス誘導が著しく抑制されていた(日沼ら未発表)。DDS ナノキャリアに本来期待される効果ではないが、今後も解析を継続する。

(8)本研究成果に関する総説等：

本研究期間において、国内外から依頼されて執筆した総説等の内訳は、日本語総説 10 報、英語総説 3 報である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計47件（うち査読付論文 44件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 小出成美、1名、黒田俊一、日沼州司	4. 巻 1869
2. 論文標題 Binding of liposomes composed of phosphatidylcholine to scavenger receptor class B type 1 and its modulation by phosphatidic acid in HEK293T cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BBA-Mol Cell	6. 最初と最後の頁 119043
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbamcr.2021.119043.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 曾宮正晴、2名、黒田俊一	4. 巻 63
2. 論文標題 Cytoplasmic delivery of small interfering RNA by photoresponsive non-cationic liposomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JDDST	6. 最初と最後の頁 102488
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jddst.2021.102488	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 巻 93
2. 論文標題 Real-time luminescence assay for cytoplasmic cargo delivery of extracellular vesicles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anal Chem	6. 最初と最後の頁 5612
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.analchem.1c00339.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 高木くるみ、曾宮正晴、2名、黒田俊一	4. 巻 14
2. 論文標題 Polymerized albumin receptor of hepatitis B virus for evading the reticuloendothelial system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 408
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ph14050408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 藤田和代、1名、曾宮正晴、黒田俊一、日沼州司	4. 巻 1868
2. 論文標題 A regulatory role of scavenger receptor class B type 1 in endocytosis and lipid droplet formation induced by liposomes containing phosphatidylethanolamine in HEK293T cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BBA-Mol Cell	6. 最初と最後の頁 118859
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2020.118859.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 李コウ、曾宮正晴、黒田俊一	4. 巻 268
2. 論文標題 Enhancing antibody-dependent cellular phagocytosis by re-education of tumor-associated macrophages with resiquimod-encapsulated liposomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 120601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2020.120601.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hyonchol Kim、2名、黒田俊一、中村史	4. 巻 20
2. 論文標題 Influence of nivolumab for intercellular adhesion force between a T cell and a cancer cell evaluated by AFM force spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors	6. 最初と最後の頁 5723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/s20195723.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 飯嶋益己、2名、黒田俊一	4. 巻 84
2. 論文標題 Enhanced sugar chain detection by oriented immobilization of Fc-fused lectins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BBB	6. 最初と最後の頁 1775-1779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2020.1773757.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉村浩一、4名、黒田俊一、浜野公一	4. 巻 21
2. 論文標題 A novel hybrid drug delivery system for treatment of aortic aneurysms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Medical Sci	6. 最初と最後の頁 5538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21155538.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hyonchol Kim、3名、黒田俊一、中村史	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of a universal method for the measurement of binding affinities of antibody drugs towards a living cell based on the AFM force spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal Methods	6. 最初と最後の頁 2922-2927
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ay00788a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野井健太郎、1名、黒田俊一、1名、荻博次	4. 巻 59
2. 論文標題 Mechanism of affinity enhanced protein adsorption on bio-nanocapsules studied by viscoelasticity measurement with wireless QCM biosensor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JJ Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SKKB03
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1347-4065/ab78e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 飯嶋益己、1名、黒田俊一	4. 巻 150
2. 論文標題 Two-dimensional membrane scaffold for the oriented immobilization of biosensing molecules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosens Bioelec	6. 最初と最後の頁 111860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2019.111860.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 巻 15
2. 論文標題 Virus-mimicking nanocarriers for the intracellular delivery of therapeutic biomolecules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanomedicine(London)	6. 最初と最後の頁 1163-1165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2217/nnm-2020-0078.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 巻 140
2. 論文標題 バイオミミック技術によるウイルスの感染機構を搭載したDDSナノキャリアの開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 薬学雑誌	6. 最初と最後の頁 147-152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.19-00187-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 巻 35
2. 論文標題 バイオ医薬に利用されるキャリア開発：B型肝炎ウイルスの初期感染機構に基づくパイオナノカプセル	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本DDS学会誌	6. 最初と最後の頁 57-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2745/dds.35.57	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小泉香織、3名、曾宮正晴、2名、黒田俊一	4. 巻 21
2. 論文標題 In vivo uterine local gene delivery system using TAT-displaying bio-nanocapsules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gene Med	6. 最初と最後の頁 e3140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jgm.3140.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野井健太郎、1名、黒田俊一、荻博次	4. 巻 293
2. 論文標題 Ultrahigh-sensitive wireless QCM with bio-nanocapsules	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensors Actuators B	6. 最初と最後の頁 59-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2019.04.150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujita K, Somiya M, Kuroda S, Hinuma S	4. 巻 510
2. 論文標題 Induction of lipid droplets in non-macrophage cells as well as macrophages by liposomes and exosomes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 184-190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.01.078.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iijima M, Araki K, Liu Q, Somiya M, Kuroda S	4. 巻 86
2. 論文標題 Oriented immobilization to nanoparticles enhanced the therapeutic efficacy of antibody drugs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 373-380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2019.01.011.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 巻 44
2. 論文標題 エンベロープウイルスやエクソソームを利用したドラッグデリバリーシステムの開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 膜	6. 最初と最後の頁 222-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.44.222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo H, Somiya M, Iijima M, Arakawa T, Kuroda S	4. 巻 16
2. 論文標題 CD11c-specific bio-nanocapsule enhances vaccine immunogenicity by targeting immune cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Nanobiotechnology	6. 最初と最後の頁 59-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12951-018-0386-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Q, Somiya M, Iijima M, Tatematsu K, Kuroda S	4. 巻 7
2. 論文標題 A hepatitis B virus-derived human hepatic cell-specific heparin-binding peptide: identification and application to a drug delivery system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomaterial Science	6. 最初と最後の頁 322-335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8bm01134f.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li H, Tatematsu K, Somiya M, Iijima M, Kuroda S	4. 巻 73
2. 論文標題 Development of a macrophage-targeting and phagocytosis-inducing bio-nanocapsule-based nanocarrier for drug delivery	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 412-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2018.04.023.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jung J, Somiya M, Jeong SY, Choi EK, Kuroda S	4. 巻 14
2. 論文標題 Low immunogenic bio-nanocapsule based on hepatitis B virus escape mutants	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nanomedicine	6. 最初と最後の頁 595-600
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nano.2017.11.017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Okamoto Y, Taguchi K, Yamasaki K, Sakuragi M, Kuroda S, Otagiri M	4. 巻 107
2. 論文標題 Albumin-encapsulated liposomes: a novel drug delivery carrier with hydrophobic drugs encapsulated in the inner aqueous core	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Pharmacol Science	6. 最初と最後の頁 436-445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2017.08.003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 飯嶋益巳、黒田俊一	4. 巻 56
2. 論文標題 ナノ界面における生体分子の精密整列固定化技術：バイオナノカプセルバイオセンシングの高感度化に向けて	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 591-597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutsu.56.591	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li Hao, Onbe Keisuke, Liu Qiushi, Iijima Masumi, Tatematsu Kenji, Seno Masaharu, Tada Hiroko, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 490
2. 論文標題 Synthesis and assembly of Hepatitis B virus envelope protein-derived particles in Escherichia coli	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 155 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.06.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shin Seol Hwa, Park Seok Soon, Lee Kyoung Jin, Ju Eun Jin, Park Jin, Ko Eun Jeong, Jung Joohee, Kuroda Shunich, Hong Seung-Mo, Hwang Jung Jin, Lee Jung Shin, Song Si Yeol, Jeong Seong-Yun, Choi Eun Kyung	4. 巻 38
2. 論文標題 Preclinical evaluation of cisplatin-incorporated bio-nanocapsules as chemo-radiotherapy for human hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 2259 ~ 2266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2017.5910	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Iijima Masumi, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 89
2. 論文標題 Scaffolds for oriented and close-packed immobilization of immunoglobulins	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 810 ~ 821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2016.10.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Somiya Masaharu, Liu Qiushi, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 1
2. 論文標題 Current Progress of Virus-mimicking Nanocarriers for Drug Delivery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nanotheranostics	6. 最初と最後の頁 415 ~ 429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ntno.21723	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 川村隆三、6名、黒田俊一、2名、中村史	4. 巻 17
2. 論文標題 A new cell separation method based on antibody-immobilized nanoneedle arrays for the detection of intracellular markers	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nano Lett	6. 最初と最後の頁 7117-7124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.7b03918.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 立松健司、黒田俊一	4. 巻 55
2. 論文標題 全自動1細胞解析単離装置：開発経緯と応用事例：1細胞単離ロボットが拓く新しい細胞スクリーニング	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 684-689
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutsu.55.684	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 飯嶋益巳, 黒田俊一	4. 巻 62
2. 論文標題 センシング分子の精密整列化技術	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ケミカルエンジニアリング	6. 最初と最後の頁 785-791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒田俊一	4. 巻 32
2. 論文標題 アカデミア発DDS技術の起業化・事業化の課題	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Drug Delivery Systems	6. 最初と最後の頁 251-258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2745/dds.32.251	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawamura R., Shimizu K., Matsumoto Y., Yamagishi A., Silberberg Y. R., Iijima M., Kuroda S., Fukazawa K., Ishihara K., Nakamura C.	4. 巻 14
2. 論文標題 High efficiency penetration of antibody-immobilized nanoneedle through plasma membrane for in situ detection of cytoskeletal proteins in living cells	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Nanobiotechnology	6. 最初と最後の頁 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12951-016-0226-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tatematsu Kenji, Iijima Masumi, Yoshimoto Nobuo, Nakai Tadashi, Okajima Toshihide, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 35
2. 論文標題 Bio-nanocapsules displaying various immunoglobulins as an active targeting-based drug delivery system	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 238 ~ 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2016.02.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iijima Masumi, Yoshimoto Nobuo, Niimi Tomoaki, Maturana Andres D., Kuroda Shun'ichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Bio-nanocapsule-based scaffold improves the sensitivity and ligand-binding capacity of mammalian receptors on the sensor chip	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 805 ~ 813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/biot.201500443	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Qiushi, Somiya Masaharu, Shimada Naohiko, Sakamoto Wakako, Yoshimoto Nobuo, Iijima Masumi, Tatematsu Kenji, Nakai Tadashi, Okajima Toshihide, Maruyama Atsushi, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 474
2. 論文標題 Mutational analysis of hepatitis B virus pre-S1 (9-24) fusogenic peptide	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 406 ~ 412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2016.04.125	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Somiya Masaharu, Liu Qiushi, Yoshimoto Nobuo, Iijima Masumi, Tatematsu Kenji, Nakai Tadashi, Okajima Toshihide, Kuroki Kazuyuki, Ueda Keiji, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 497
2. 論文標題 Cellular uptake of hepatitis B virus envelope L particles is independent of sodium taurocholate cotransporting polypeptide, but dependent on heparan sulfate proteoglycan	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Virology	6. 最初と最後の頁 23 ~ 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virol.2016.06.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takamatsu Shinji, Shimomura Mayuka, Kamada Yoshihiro, Maeda Haruka, Sobajima Tomoaki, Hikita Hayato, Iijima Masumi, Okamoto Yuta, Misaki Ryo, Fujiyama Kazuhito, Nagamori Shushi, Kanai Yoshikatsu, Takehara Tetsuo, Ueda Keiji, Kuroda Shun'ichi, Miyoshi Eiji	4. 巻 26
2. 論文標題 Core-fucosylation plays a pivotal role in hepatitis B pseudo virus infection: a possible implication for HBV glycotherapy	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Glycobiology	6. 最初と最後の頁 1180~1189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/glycob/cww067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 曾宮正晴, 黒田俊一	4. 巻 31
2. 論文標題 非カチオン性リポソームによる核酸医薬送達法の可能性	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Drug Delivery Systems	6. 最初と最後の頁 35-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 飯嶋益巳, 黒田俊一	4. 巻 94
2. 論文標題 生体分子の整列固定化法	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 日本生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Qiushi, Somiya Masaharu, Kuroda Shun'ichi	4. 巻 22
2. 論文標題 Elucidation of the early infection machinery of hepatitis B virus by using bio-nanocapsule	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 8489 ~ 8489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v22.i38.8489	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 曾宮正晴, 黒田俊一	4. 巻 45
2. 論文標題 バイオミミック技術による DDS ナノキャリアの開発 : B型肝炎ウイルス感染機構に基づくバイオナノカプセルを中心に	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 ファインケミカル	6. 最初と最後の頁 18-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡本裕子、3名、黒田俊一、小田切優樹	4. 巻 11
2. 論文標題 Effect of PEGylation on the physicochemical and pharmacokinetic characteristics of bovine serum albumin-encapsulated liposome	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Asian J Pharm Sci	6. 最初と最後の頁 112-113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajps.2015.11.101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤田和代、2名、曾宮正晴、黒田俊一、1名、日沼州司	4. 巻 2016
2. 論文標題 Release of siRNA from liposomes induced by curcumin	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Nanotechnol	6. 最初と最後の頁 7051523
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2016/7051523	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 良元伸男、黒田俊一	4. 巻 74
2. 論文標題 全自動1細胞解析単離装置および新たな細胞育種技術の開発	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとバイオインダストリー	6. 最初と最後の頁 30-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 20件)

1. 発表者名 黒田俊一
2. 発表標題 全自動1細胞解析単離装置によるネオバイオ分子ライブラリーからのベスト分子の選抜
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Iijima, M., Kuroda S.
2. 発表標題 Planar membrane displaying IgGs in an oriented immobilization manner for biosensor surface.
3. 学会等名 5th International Conference on Bio-Sensing Technology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Xu Z, Tatematsu K, Okamoto K, Kuroda S.
2. 発表標題 Specific delivery of the NF- κ B corepressor sMPAID to inflammatory region by using early infection machinery of hepatitis B virus.
3. 学会等名 National Tsing Hua University - Osaka University Life Science Student Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamagishi A, Susaki M, Takano U, Iijima M, Kuroda S, Okada T, Nagasaki A, Nakamura C.
2. 発表標題 Evaluation of mechanical property of intermediate filament related with stiffness of breast cancer cell by use of nanoneedle and AFM.
3. 学会等名 The 2017 MRS Fall Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsumoto Y, Shimizu K, Kawamura R, Yamagishi A, Iijima M, Kuroda S, Nakamura C.
2. 発表標題 Mechanical Separation of Neural Stem Cell Derived from Human iPS Cell Using Nanoneedle Array.
3. 学会等名 IGER International Symposium on Cell Surface Structures and Functions 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Iijima M, Kuroda S.
2. 発表標題 Development of scaffolding molecule for improving function of biomolecules.
3. 学会等名 42nd FEBS Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Iijima M, Kuroda S.
2. 発表標題 Capsular- and Planar-Scaffold for Clustering and Oriented Immobilization of Sensing Molecules.
3. 学会等名 Nanotech France 2017 Conference and Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Liu Q, Somiya M, Kuroda S.
2. 発表標題 Analysis of Cell Attachment and Entry of Hepatitis B Virus.
3. 学会等名 5th JAPAN-TAIWAN-KOREA HBV Research Symposium 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Liu Q, Somiya M, Kuroda S.
2. 発表標題 NOVEL HEPARIN-BINDING DOMAIN OF HEPATITIS B VIRUS: APPLICATION TO DRUG DELIVERY SYSTEM.
3. 学会等名 Biomaterials International 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakamura M, Yamazaki T, Takai M, Tatematsu K, Kuroda S.
2. 発表標題 Establishment of human olfactory receptor-expressing cell lines for high throughput odorant analysis.
3. 学会等名 The 21th SANKEN International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamada Y, Iijima M, Kuroda S.
2. 発表標題 Bio-nanocapsule-based scaffold for clustering and oriented-immobilization of sensing molecules.
3. 学会等名 The 21th SANKEN International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Liu Q, Somiya M, Kuroda S.
2. 発表標題 Creation and application of hepatitis B virus-mimicking nanoparticle for drug delivery.
3. 学会等名 The 21st SANKEN International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shimizu, K., Kawamura, R., Iijima, M., Kuroda, S., Fukazawa, K., Ishihara, K., Nakamura, C
2. 発表標題 High efficiency penetration of antibody-immobilized nanoneedle through plasma membrane for in situ detection of cytoskeletal proteins in living cells
3. 学会等名 Biosensors2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Iijima, M., Kuroda S
2. 発表標題 Reconstituted ZZ-L particles and planar ZZ-L membrane for the oriented immobilization of Fc-fused molecules on various types of biosensors.
3. 学会等名 Biosensors2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Qiushi Liu, Masaharu Somiya, and Shun'ichi Kuroda
2. 発表標題 Possible involvement of HBV pre-S1 (9-24) fusogenic peptide in uncoating process
3. 学会等名 2016 International HBV Meeting (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Nakamura, C., Shimizu, K., Kawamura, R., Iijima, M., Kuroda, S., Fukazawa, K., Ishihara, K
2. 発表標題 High efficiency insertion of antibody-immobilized nanoneedle into living cells for in situ detection of cytoskeletal proteins.
3. 学会等名 PRiME2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Masumi Iijima, Shun'ichi Kuroda
2. 発表標題 Reconstituted planar ZZ-L membrane for the oriented immobilization of immunoglobulin G on biosensors
3. 学会等名 e 20th SANKEN International The 15th SANKEN Nanotechnology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Kenji Tatematsu, Shun'ichi Kuroda
2. 発表標題 Bio-nanocapsules displaying various immunoglobulins as an active targeting-based drug delivery system
3. 学会等名 e 20th SANKEN International The 15th SANKEN Nanotechnology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Zichang Xu, Kenji Tatematsu, Kazuki Okamoto, Shun'ichi Kuroda
2. 発表標題 Nuclear delivery of NF- B corepressor, MTI-II, by using hepatitis B virus infection machinery
3. 学会等名 e 20th SANKEN International The 15th SANKEN Nanotechnology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Qiushi Liu, Masaharu Somiya, Shun'ichi Kuroda
2. 発表標題 Elucidation of early infection machinery of hepatitis B virus and bio-nanocapsule
3. 学会等名 e 20th SANKEN International The 15th SANKEN Nanotechnology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Hao Li, Keisuke Onbe, Qiushi Liu, Masumi Iijima, Nobuo Yoshimoto, Tadashi Nakai, Kenji Tatematsu, Toshihide Okajima, Masaharu Seno, Hiroko Tada, Shun'ichi Kuroda
2. 発表標題 Synthesis and assembly of hepatitis B virus envelope protein-derived particles in Escherichia coli.
3. 学会等名 e 20th SANKEN International The 15th SANKEN Nanotechnology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計7件

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 発行年 2018年
2. 出版社 CMC出版（東京）	5. 総ページ数 75-82
3. 書名 ドラッグデリバリーシステム-バイオ医薬品創成に向けた組織、細胞内、核内送達技術の開発	

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 発行年 2018年
2. 出版社 化学同人（京都）	5. 総ページ数 11章
3. 書名 CSJカレントレビュー 生命機能に迫る分子	

1. 著者名 曾宮正晴、黒田俊一	4. 発行年 2017年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 10
3. 書名 最新DDS技術の先端バイオ医薬品への応用開発 ナノDDS、リポソーム、表面修飾、プロドラッグなどの最新技術と製剤への具体的応用	

1. 著者名 立松健司、黒田俊一	4. 発行年 2017年
2. 出版社 キヤノン財団ライブラリ	5. 総ページ数 14
3. 書名 ナノテクノロジーが拓く未来の医療	

1. 著者名 飯嶋益巳, 黒田俊一	4. 発行年 2017年
2. 出版社 CMC出版	5. 総ページ数 12
3. 書名 細胞・生体分子の固定化と機能発現	

1. 著者名 李コウ, 曾宮正晴, 立松健司, 黒田俊一	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer-Nature	5. 総ページ数 Chapter 16; pp.299-313
3. 書名 Drug Delivery Systems, Methods in Molecular Biology (Kewal K. Jain (ed.))	

1. 著者名 立松健司, 黒田俊一	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer-Nature	5. 総ページ数 7-17
3. 書名 Single Cell Biomedicine (Translational Bioinformatics Series (Ed. Dr. Xiangdong Wang))	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 医薬	発明者 黒田俊一、飯嶋益巳、立松健司	権利者 大阪大学
産業財産権の種類、番号 特許、2017-054937	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 医薬	発明者 黒田俊一、飯嶋益巳、立松健司	権利者 大阪大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/010791	出願年 2017年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 核酸を内封してなる中性又はアニオン性リポソーム及びその製造方法	発明者 黒田俊一、曾宮正晴	権利者 片山化学工業
産業財産権の種類、番号 特許、6404034	取得年 2018年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

黒田研究室ホームページ
http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/smb/
Kuroda Lab
http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/smb/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	立松 健司 (TATEMATSU KENJI) (00322743)	大阪大学・産業科学研究所・助教 (14401)	
研究分担者	曾宮 正晴 (SOMIYA MASAHARU) (50788974)	大阪大学・産業科学研究所・助教 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------