

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H01170

研究課題名(和文) 律速段階の解明に基づいたウイルスを凌駕する革新的医薬分子送達システムの創製

研究課題名(英文) Innovative gene/nucleic acid delivery system based on optimized intracellular trafficking steps

研究代表者

原島 秀吉 (HARASHIMA, HIDEYOSHI)

北海道大学・薬学研究院・卓越教授

研究者番号：00183567

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまで核酸・遺伝子の送達システムの開発を行い、重要な律速段階を見出すことに成功した。本研究はこれらの律速段階の分子機構を解明し、核酸ナノ医薬・遺伝子治療へ臨床応用可能な最高水準の革新的送達システムの創出に貢献することを目標とした。本研究は、ナノDDS技術を駆使することでBBを解明するとともに新たな戦略を確立し、最高水準のナノDDSを用いて、がん免疫療法の進化へ貢献する。さらに、疾患細胞のミトコンドリア(Mt)への遺伝子送達システムを開発し、Mt遺伝子治療の臨床応用へ展開する。これらの研究成果は、大学発の革新的核酸ナノ医薬品の創出に大きく貢献することが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は1999年薬剤分子設計学研究室を創設以来(19年間)、ウイルスベクターに匹敵する優れた発現効率を有し、かつ、安全性にも優れた人工遺伝子送達システムの開発を進めてきた。本研究により、ナノDDSによる核酸医薬・遺伝子治療におけるブラックボックスを分子レベルで解明することにより、がん免疫療法の薬効を飛躍的に促進することに成功した。さらに、疾患細胞のミトコンドリア(Mt)への遺伝子送達システムを開発することにも成功し、Mt遺伝子治療の臨床応用への基盤技術を確立することに成功した。これらの研究成果は、大学発の革新的核酸ナノ医薬品の創出に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have been developing our own gene/nucleic acids delivery system and found important rate limiting steps. In this study, we challenged to identify molecular mechanisms of these rate limiting steps. In addition, we applied these delivery systems for mitochondrial gene delivery as well as for cancer immunotherapy. We succeeded to develop a novel nucleic acids delivery system to enhance antitumor effects via a mechanism of cancer immunotherapy. We also succeeded to develop a novel gene delivery system to mitochondria based on genome editing technology. These new technologies will contribute to enhancing clinical translation for nanomedicine.

研究分野：物理系薬学

キーワード：DDS ナノ医療 核酸医薬 遺伝子治療 律速段階 がん免疫 ミトコンドリア ゲノム編集

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。

## 1. 研究開始当初の背景

2018年は核酸ナノ医薬の幕開けとなり、ナノDDS(ナノサイズのキャリア型薬物送達システム)には更なる機能の進化が求められている。我々はこれまで核酸・遺伝子の送達システムの開発を行い、重要な律速段階を見出すことに成功した。本研究はこれらの律速段階の分子機構を解明し、核酸ナノ医薬・遺伝子治療へ臨床応用可能な最高水準の革新的送達システムの創出に貢献する。また、本年のノーベル賞受賞によりがん免疫療法への期待はさらに大きなものとなっているが、標的がブラックボックス (BB) となっているため治療法の進歩の壁となっている。

## 2. 研究の目的

本研究は、ナノDDS技術を駆使することでBBを解明するとともに新たな戦略を確立し、最高水準のナノDDSを用いて、がん免疫療法の進化へ貢献する。さらに、これまで不可能であった疾患細胞のミトコンドリア (Mt) への遺伝子送達システムを開発し、Mt 遺伝子治療の臨床応用へ展開する。これらの研究成果は、大学発の革新的核酸ナノ医薬品の創出に大きく貢献することが期待される。本研究は以下の4本の柱からなっている。siRNA送達システムの開発において、新たな律速段階を定量的・速度論的に解明し、核酸ナノ医療の基盤技術を確立する。pDNA送達による遺伝子発現における律速段階 (TC/TL) の分子機構を解明し、新たなメカニズムに基づいて最高水準のpDNA送達システムを創製する。がん免疫療法のBBを開き、個別化医療に対応したがん免疫ナノ治療法を確立する。疾患細胞のMtへの遺伝子送達法を確立し、Mt 遺伝子治療の道を拓く。

## 3. 研究の方法

**1 siRNA送達における基盤技術 (siRNA送達)**: siRNAのin vivo肝臓におけるエンドソーム脱出効率を、細胞質中RNAキナーゼによる生ずる5'末端リン酸化siRNAを陰イオン交換HPLCにより経時的に定量することで測定した。また、細胞質到達後のRISC複合体を形成したsiRNA量RISC構成タンパク質Ago2に対する免疫沈降を利用して精製し、定量的RT-PCR法により定量した。また、蛍光標識siRNAにより、肝臓到達後のsiRNAの肝臓内局在を観察した。

**2 pDNAによる遺伝子治療 (pDNA送達)**: pDNAの遺伝子発現過程は、細胞取込、エンドソーム脱出、核移行、転写・翻訳という連続した素過程からなる。これまでの解析結果から、転写・翻訳 (Transcription/Translation: 以下 TC/TL) の過程において千倍あるいはそれ以上の差が生じる現象に直面した。本研究はこれらの成果に基づいて、TC/TLの過程がpDNAによる遺伝子発現過程の律速段階と考え、TC/TLの過程に如何なる機構が存在するかを解明する。同時に新たな機構に基づいてウイルスを凌駕する世界最高水準の遺伝子送達システムを創製し、がん免疫ナノ治療 (DNA/RNAワクチン) Mt 遺伝子治療へと展開する。

**3 真の標的特定に基づくがん免疫ナノ療法 (がん免疫ナノ療法)**: 複数の担がんマウスモ

デルの腫瘍組織におけるがん免疫関連の遺伝子の mRNA 発現を RT-qPCR 法を用いて定量し、抗腫瘍活性を規定する遺伝子群を抽出した。また、アジュバント搭載ナノ DDS を用いた評価では、フローサイトメトリーと用いたナチュラルキラー細胞の活性化、免疫チェックポイント阻害剤との併用時の抗腫瘍活性を調べた。アジュバントと抗原を搭載したナノ DDS を用いた実験では、抗原提示細胞へのナノ DDS の取込み、抗原提示細胞の活性化、抗原提示をフローサイトメトリーを用いて解析し、T 細胞の活性化は T 細胞の増殖と細胞障害活性を調べた。

**4 ミトコンドリア遺伝子治療の基盤技術 (Mt 送達) :** 本研究では、疾患細胞の異常 Mt への遺伝子送達を可能とするナノ DDS の創製を目標とした。核酸・遺伝子およびゲノム編集装置をコアとするナノ粒子を封入した Mt 標的型ナノ DDS (MITO-Porter) の調製を検討し、粒子径・表面電位、封入率を測定し最適化した。(In vitro 実験) MITO-Porter を疾患細胞に添加し、細胞内動態を共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて観察した。ゲノム編集効率は目的の遺伝子配列を定量的 PCR 法で測定し評価した。(In vivo 実験) 初代培養神経細胞を樹立し、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いたリアルタイム動態観察法を用いてナノ DDS の神経細胞軸索輸送の検証を行った。

#### 4 . 研究成果

##### 1 siRNA 送達における基盤技術 (siRNA 送達) :

肝臓への siRNA 送達後、RNA キナーゼによる siRNA の 5' リン酸化体と非リン酸化体を陰イオン交換 HPLC により経時的に定量したところ、肝臓到達量の約 8% の siRNA が 5' リン酸化されたことから、少なくとも 8% 以上のエンドソーム脱出効率を達成していることを明らかにした。また、投与から 1 時間後には最大値を示したことから、リン酸化反応は速やかに起き、律速段階ではないことが示唆された。また、その挙動は異なるイオン化脂質を含む脂質ナノ粒子を用いた場合も同様であった。一方、RISC 複合体形成した siRNA の割合は 24 時間後まで経時的に上昇したことから、RISC 形成過程が律速であることが示唆された。蛍光標識 siRNA の肝臓内局在を観察した結果、siRNA は核内の一部の領域に高濃度の濃縮されており、細胞質中濃度は比較的低いことが明らかとなった。RISC 複合体形成は細胞質において生じることから、細胞内局在が律速家庭の原因であることが示唆された。核外輸送シグナルをコンジュゲートした siRNA を送達した結果、投与から早い時間帯において遺伝子ノックダウン効果が向上する結果から、siRNA の細胞内局在変化が律速段階を克服する有用な戦略として記載された。

##### 2 pDNA による遺伝子治療 (pDNA 送達) :

肝臓選択的なキャリアと脾臓選択的なキャリアの体内分布・組織内分布を比較したところ、両者に大きな違いは見られず、pDNA の移行量だけでは遺伝子発現の差は説明できなかった。次に、核移行、転写、翻訳の各過程の効率を評価するため、各組織の核内 pDNA 量、mRNA 発現量、タンパク質発現量を定量した。その結果、遺伝子発現の差には翻訳過程が大きく関与していることが示唆された。さらに、トランスクリプトーム解析の結果、遺伝子発現している細胞は、発現していない、もしくは発現が低い細胞と比べ、転写・翻訳に関わるパスウェイが有意に変動していることが示された。Ionizable cationic lipid として DODAP を用いたとき、ヘルパー脂質 DOPE の含量が肝臓と脾臓の臓器振り分けを支配していることが明らかとなった。その結果、肝臓においては、ApoE を介して取り込まれると高い遺伝子発現を

誘起すること、脾臓においては、補体レセプターを介して取り込まれると高い遺伝子発現を誘起すること、が強く示唆された。このように、pDNA の遺伝子発現過程において、キャリアの取り込み過程と遺伝子発現効率が密接に関連している、という作業仮説は極めて独創的で、今後、underline mechanism の解明を進めたい。

### **3 真の標的特定に基づくがん免疫ナノ療法 (がん免疫ナノ療法):**

患者個人の腫瘍関連微小環境の免疫状態を把握することは治療戦略の決定に不可欠である。免疫チェックポイント阻害剤の薬効が異なる担がんマウスモデルを用いて腫瘍微小環境のがん免疫関連遺伝子の mRNA 発現を測定し、10 種類の遺伝子によって抗腫瘍活性を示す免疫状態を評価可能な IS-panel-10 を構築することに成功した。また、担がんマウスモデルに対し、アジュバントと抗原を搭載したナノ DDS を腫瘍内投与、皮下投与、静脈内投与した結果、静脈内投与が最も高い抗腫瘍活性を示した。それ故、静脈内投与型のナノ DDS のがん免疫療法における有用性評価を進めた。アジュバントのみを搭載したナノ DDS は、効果的なナチュラルキラーT細胞の活性化を介して、免疫チェックポイント阻害剤に対する耐性を克服し、メラノーマ肺転移に対する相乗的な治療効果を示した。さらに、アジュバントと抗原を搭載したナノ DDS は T 細胞への抗原提示過程以降を促進し、アジュバントと抗原をナノ DDS 化することで short live effector タイプと effector memory タイプのキラーT細胞フェノタイプの誘導が促進されることを明らかにした。

### **4 ミトコンドリア遺伝子治療の基盤技術 (Mt 送達):**

核酸・遺伝子をコアとするナノ粒子を形成し、細胞膜と Mt 膜 を突破するために、脂質膜コーティングを施した Mt 標的型ナノ DDS (MITO-Porter)を開発した。また、細胞内での流動性の向上を目指し、ポリエチレングリコール (PEG) などの親水性ポリマーの修飾や、微小な粒子径も検討し細胞内動態の最適化を図った。In vitro 実験として、MITO-Porter を疾患細胞に添加し、細胞内動態を観察した結果、MITO-Porter が疾患細胞 Mt に送達される事が確認された。さらに、Mt ゲノム編集装置を MITO-Porter に搭載し、mtDNA 変異を保有するモデル細胞 Mt 内部にゲノム編集装置を導入する事に成功した (特願 2023-027872)。In vivo 実験として、ナノ DDS の神経細胞軸索輸送の検証を行うため、初代培養神経細胞を樹立し、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いたリアルタイム動態観察法を確立した。種々の検討の結果、新型 MITO-Porter が神経細胞軸索上を移動していることを確認した。本研究は、疾患細胞の異常 Mt への遺伝子送達を可能とするナノ DDS を創製に寄与する成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計30件（うち査読付論文 30件／うち国際共著 11件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kimura S, Khalil IA, Elewa YHA, Harashima H	4. 巻 330
2. 論文標題 Novel lipid combination for delivery of plasmid DNA to immune cells in the spleen.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 753-764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2021.01.005.	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 Hagino Y, Khalil IA, Kimura S, Kusumoto K, Harashima H	4. 巻 18
2. 論文標題 GALA-Modified Lipid Nanoparticles for the Targeted Delivery of Plasmid DNA to the Lungs.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Pharm.	6. 最初と最後の頁 878-888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00854.	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 Elwakil A, Gao T, Isono T, Sato Y, Elewa Y, Satoh T, Harashima H,	4. 巻 8
2. 論文標題 Engineered e-decalactone lipomers by-pass the liver to selectively in vivo deliver mRNA to the lungs without targeting ligands	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mater Horizons	6. 最初と最後の頁 2251-2259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1mh00185j	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 Abbasi S, Higashino H, Sato Y, Minami K, Kataoka M, Yamashita S, Harashima H	4. 巻 18
2. 論文標題 Maximizing the Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs Using Novel Oil-Like Materials in Lipid-Based Formulations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Pharm	6. 最初と最後の頁 3181-3189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00197	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 Nakamura T, Nakade T, Yamada K, Sato Y, Harashima H	4. 巻 609
2. 論文標題 The hydrophobic tail of a pH-sensitive cationic lipid influences siRNA transfection activity and toxicity in human NK cell lines.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Pharm	6. 最初と最後の頁 121140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2021.121140	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 Nakamura T, Sato T, Endo R, Sasaki S, Takahashi N, Sato Y, Hyodo M, Hayakawa Y, Harashima H.	4. 巻 9
2. 論文標題 STING agonist loaded lipid nanoparticles overcome anti-PD-1 resistance in melanoma lung metastasis via NK cell activation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Immunotherapy Cancer	6. 最初と最後の頁 e002852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jitc-2021-002852	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 Yamada Y, Ishimaru T, Ikeda K, Harashima H	4. 巻 111
2. 論文標題 Validation of the mitochondrial delivery of vitamin B1 to enhance ATP production using SH-SY5Y cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Pharm. Sci.	6. 最初と最後の頁 432-439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2021.08.033	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 Sasaki D, Abe J, Takeda A, Harashima H, Yamada Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Transplantation of MITO cells, mitochondria activated cardiac progenitor cells, to the ischemic myocardium of mouse enhances the therapeutic effect.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 4344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-08583-5.	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 Kimura S, Khalil IA, Elewa YHA, Harashima H	4. 巻 330
2. 論文標題 Novel lipid combination for delivery of plasmid DNA to immune cells in the spleen.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 753-764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2021.01.005.	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 Hagino Y, Khalil IA, Kimura S, Kusumoto K, Harashima H	4. 巻 18
2. 論文標題 GALA-Modified Lipid Nanoparticles for the Targeted Delivery of Plasmid DNA to the Lungs.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Pharm.	6. 最初と最後の頁 878-888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00854.	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 Hashiba A, Toyooka M, Sato Y, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H.	4. 巻 327
2. 論文標題 The use of design of experiments with multiple responses to determine optimal formulations for in vivo hepatic mRNA delivery.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 467-476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.08.031.	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 Sato Y, Kinami Y, Hashiba K, Harashima H.	4. 巻 322
2. 論文標題 Different Kinetics for the Hepatic Uptake of Lipid Nanoparticles Between the Apolipoprotein E/low Density Lipoprotein Receptor and the N-acetyl-d-galactosamine/asialoglycoprotein Receptor Pathway.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Control Release	6. 最初と最後の頁 217-226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.08.031.	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 Nakamura T, Kawai M, Sato Y, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H	4. 巻 17
2. 論文標題 The Effect of Size and Charge of Lipid Nanoparticles Prepared by Microfluidic Mixing on Their Lymph Node Transitivity and Distribution.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Pharm.	6. 最初と最後の頁 944-953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01182	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 Nakamura T, Yamada K, Sato Y, Harashima H.	4. 巻 587
2. 論文標題 Lipid nanoparticles fuse with cell membranes of immune cells at low temperatures leading to the loss of transfection activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Pharm.	6. 最初と最後の頁 119652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2020.119652.	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 Yamada Y, Somiya K, Miyauchi A, Osaka H, Harashima H	4. 巻 10
2. 論文標題 Validation of a mitochondrial RNA therapeutic strategy using fibroblasts from a Leigh syndrome patient with a mutation in the mitochondrial ND3 gene.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 7511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-64322-8.	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 Yamada Y, Fukuda Y, Sasaki D, Maruyama M, Harashima H	4. 巻 52
2. 論文標題 Development of a Nanoparticle That Releases Nucleic Acids in Response to a Mitochondrial Environment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mitochondrion	6. 最初と最後の頁 67-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2020.02.009	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 Sato Y, Okabe N, Note Y, Hashiba K, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H	4. 巻 102
2. 論文標題 Hydrophobic scaffolds of pH-sensitive cationic lipids contribute to miscibility with phospholipids and improve the efficiency of delivering short interfering RNA by small-sized lipid nanoparticles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 341-350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2019.11.022	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 Kimura S, Khalil IA, Elewa YHA, Harashima H	4. 巻 313
2. 論文標題 Spleen selective enhancement of transfection activities of plasmid DNA driven by octaarginine and an ionizable lipid and its implications for cancer immunization.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 70-79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2019.09.009	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 該当する

1. 著者名 Santiwarangkool S, Akita H, Khalil IA, Abd Elwakil MM, Sato Y, Kusumoto K, Harashima H.	4. 巻 307
2. 論文標題 A study of the endocytosis mechanism and transendothelial activity of lung-targeted GALA-modified liposomes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 55-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2019.06.009	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 該当する

1. 著者名 396.Kawamura E, Hibino M, Harashima H, Yamada Y.	4. 巻 28
2. 論文標題 Targeted mitochondrial delivery of antisense RNA-containing nanoparticles by a MITO-Porter for safe and efficient mitochondrial gene silencing.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mitochondrion.	6. 最初と最後の頁 178-188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2019.08.004	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 Younis MA, Khalil IA, Abd Elwakil MM, Harashima H	4. 巻 16
2. 論文標題 A Multifunctional Lipid-Based Nanodevice for the Highly Specific Codelivery of Sorafenib and Midkine siRNA to Hepatic Cancer Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Pharm.	6. 最初と最後の頁 4031-4044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00738	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 Nakamura T, Yamada Y, Sato Y, Khalil IA, Harashima H.	4. 巻 218
2. 論文標題 Innovative nanotechnologies for enhancing nucleic acids/gene therapy: Controlling intracellular trafficking to targeted biodistribution.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomaterials.	6. 最初と最後の頁 119329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2019.119329.	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 Khalil IA, Sato Y, Harashima H.	4. 巻 16
2. 論文標題 Recent advances in the targeting of systemically administered non-viral gene delivery systems.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Expert Opin Drug Deliv.	6. 最初と最後の頁 1037-1050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/17425247.2019.1656196	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 Sasaki Kosuke, Sato Yusuke, Okuda Kento, Iwakawa Kazuki, Harashima Hideyoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 mRNA-Loaded Lipid Nanoparticles Targeting Dendritic Cells for Cancer Immunotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1572 ~ 1572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics14081572	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 Okuda Kento, Sato Yusuke, Iwakawa Kazuki, Sasaki Kosuke, Okabe Nana, Maeki Masatoshi, Tokeshi Manabu, Harashima Hideyoshi	4. 巻 348
2. 論文標題 On the size-regulation of RNA-loaded lipid nanoparticles synthesized by microfluidic device	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 648 ~ 659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2022.06.017	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 -

1. 著者名 Shimosakai Ryoya, Khalil Ikramy A., Kimura Seigo, Harashima Hideyoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 mRNA-Loaded Lipid Nanoparticles Targeting Immune Cells in the Spleen for Use as Cancer Vaccines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 1017 ~ 1017
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph15081017	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 Nakamura Takashi, Haloho Sion Elisabeth Elfainatur, Harashima Hideyoshi	4. 巻 343
2. 論文標題 Intravenous liposomal vaccine enhances CTL generation, but not until antigen presentation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 1 ~ 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2022.01.020	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 Nakamura Takashi, Kawakami Kyoko, Nomura Momoka, Sato Yusuke, Hyodo Mamoru, Hatakeyama Hiroto, Hayakawa Yoshihiro, Harashima Hideyoshi	4. 巻 345
2. 論文標題 Combined nano cancer immunotherapy based on immune status in a tumor microenvironment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 200 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2022.03.026	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 Hori Ikuma, Harashima Hideyoshi, Yamada Yuma	4. 巻 24
2. 論文標題 Development of a Mitochondrial Targeting Lipid Nanoparticle Encapsulating Berberine	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 903 ~ 903
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24020903	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 Kubota Fumika, Satrialdi, Takano Yuta, Maeki Masatoshi, Tokeshi Manabu, Harashima Hideyoshi, Yamada Yuma	4. 巻 16
2. 論文標題 Fine tuning the encapsulation of a photosensitizer in nanoparticles reveals the relationship between internal structure and phototherapeutic effects	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biophotonics	6. 最初と最後の頁 e202200119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbio.202200119	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

〔学会発表〕 計31件 (うち招待講演 21件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 Harashima H
2. 発表標題 Multifunctional Envelope-type Nano Device: from Controlled Intracellular Trafficking to Clinical Application for Nanomedicine.
3. 学会等名 FIP Host Madsen Medal 2021 Award Lecture. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原島秀吉
2. 発表標題 次世代薬剤学を語ろう！ 多機能性エンベロープ型ナノ構造体の創製と社会実装から見える次世代薬剤学
3. 学会等名 第36回日本薬剤学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田 勇磨、原島秀吉
2. 発表標題 ミトコンドリア標的型 Drug Delivery System を基盤とした遺伝子治療戦略の検証
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会第6回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamada Y, Harashima H.
2. 発表標題 Targeting mitochondria: innovation of mitochondrial drug delivery system (DDS) to mitochondrial medicine.
3. 学会等名 Mitochondrial Medicine -Therapeutic Development.（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村孝司
2. 発表標題 がん免疫療法を加速するナノDDSの開発
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村孝司、山田小春、佐藤悠介、原島秀吉
2. 発表標題 低温下での脂質ナノ粒子の免疫細胞表面への結合が引き起こすトランスフェクション活性の消失
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤悠介、奥田健斗、岩川和樹、佐々木宏輔、原島秀吉
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスによる脂質ナノ粒子の粒径制御と in vivo RNA送達
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤悠介
2. 発表標題 機能性脂質を基盤とした脂質ナノ粒子製剤の開発とゲノム編集への応用
3. 学会等名 第7回日本筋学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hideyoshi Harashima, Yusuke Sato, Takashi Nakamura, Yuma Yamada
2. 発表標題 Nucleic Acid Drugs and Nanomedicine: Multifunctional Envelope-type Nano Device for Nanomedicine
3. 学会等名 The 79 Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Harashima H
2. 発表標題 Multifunctional Envelope-type Nano Device for gene delivery: Concept and Clinical Application for Nanomedicine.
3. 学会等名 The 43rd Online KAST International Symposium “New Horizons of Nanobiological Therapeutics” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村孝司、増田秀幸、野間洋輔、原島秀吉
2. 発表標題 BCG-CWS搭載脂質ナノ粒子の全身投与型がんアジュバントへの応用
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村孝司、河合美典、佐藤悠介、真栄城正寿、渡慶次学、原島秀吉
2. 発表標題 脂質ナノ粒子の特性がリンパ節送達とリンパ節内分布へ与える影響
3. 学会等名 日本薬剤学会 第35年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamada Y, Harashima H.
2. 発表標題 A Mitochondrial DDS Towards An Innovative Therapy.
3. 学会等名 2020 Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. "Rising Suns from Japanese Society of Drug Delivery System" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamada Y, Harashima H.
2. 発表標題 MITO-Porter, a cutting-edge mitochondrial DDS.
3. 学会等名 Pharmaceutical Society of Korea 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤悠介
2. 発表標題 効率的かつ安全な高分子送達を可能とする脂質ナノ粒子製剤の開発
3. 学会等名 日本薬学会第141年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤悠介
2. 発表標題 ゲノム編集タンパク質搭載脂質ナノ粒子の開発とHBV抑制効果の検証
3. 学会等名 第27回次世代医工学研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Harashima Hideyoshi
2. 発表標題 Multifunctional Envelope-type Nano Device for Nucleic Acids/Gene Delivery
3. 学会等名 Bio Incheon Global Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Harashima Hideyoshi
2. 発表標題 Multifunctional Envelope-type Nano Device for Gene/Nucleic acids Delivery: Concept and Application to Nanomedicine
3. 学会等名 15th US-Japan DDS Symposium.（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Yamada Y, Harashima H.
2. 発表標題 MITO-Porter, liposomal mitochondrial delivery system: Toward Mitochondrial Nanomedicine
3. 学会等名 Liposome Research Days 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamada Yuma
2. 発表標題 MITO-Porter therapy to open innovative therapies targeting mitochondria.
3. 学会等名 16th ASMRM & 19th J-mit (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原島秀吉
2. 発表標題 多機能性エンベロープ型ナノ構造体の開発とナノ医療への展開：日本薬剤学会・日本薬学会合同シンポジウム 脂質・細胞製剤の新展開
3. 学会等名 日本薬剤学会第34回年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sato Y, Hashiba K, Hashiba A, Okabe N, Harashima H
2. 発表標題 Efficient delivery of macromolecules by molecular design of cationic lipids
3. 学会等名 Liposome Research Days 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haloho S, Nakamura T, Harashima H.
2. 発表標題 Liposomal delivery of TLR3 agonist induces robust antitumor activity without systemic inflammation following intravenous administration.
3. 学会等名 The 48th Annual Scientific Meeting of the Australian and New Zealand Society for Immunology (ASI) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haloho S, Nakamura T, Harashima H
2. 発表標題 TLR3 adjuvant-loaded liposome induce robust antitumor activity and reduces systemic inflammation following intravenous administration.
3. 学会等名 Liposome Research Days 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sato Y, Okuda K, Iwakawa K, Sasaki H, Harashima H.
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスによる脂質ナノ粒子の粒径制御とin vivo RNA送達
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Harashima H.
2. 発表標題 Multifunctional Envelope-type Nano Device: from Controlled Intracellular Trafficking to Clinical Application for Nanomedicines
3. 学会等名 Liposome Research Days 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kimura S, Harashima H.
2. 発表標題 Different cellular responses to lipid-based carriers affect tissue/cell-selective gene delivery
3. 学会等名 Liposome Research Days 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村孝司
2. 発表標題 免疫システムを制御する脂質ナノ粒子の開発
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takashi Nakamura
2. 発表標題 Nano cancer immunotherapy mediated by lipid nanoparticles
3. 学会等名 The 7th Japan-Taiwan Joint Symposium For Pharmaceutical Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田 勇磨、原島秀吉
2. 発表標題 ミトコンドリアDDSを基盤とした遺伝子細胞治療への挑戦
3. 学会等名 第28回日本遺伝子細胞治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田勇磨、丸山美菜子、原島秀吉
2. 発表標題 治療用rRNA送達によるミトコンドリア遺伝子治療戦略の検証
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第7回年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 原島秀吉（共著）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 薬事日報社	5. 総ページ数 381
3. 書名 THE創薬 小資源国家にっぽんの生きる道 日本薬学会編	

1. 著者名 山田勇磨、原島秀吉	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 381
3. 書名 ミトコンドリアダイナミクス. 第2編、第1章、第5節	

1. 著者名 原島秀吉（共著）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 565
3. 書名 核酸科学ハンドブック	

1. 著者名 原島秀吉（共著）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 薬事日報社	5. 総ページ数 381
3. 書名 THE創薬 小資源国家にっぽんの生きる道 日本薬学会編	

1. 著者名 原島秀吉、片岡一則	4. 発行年 2019年
2. 出版社 丸善出版株式会社	5. 総ページ数 217
3. 書名 ドラッグキャリア設計入門 DDSからナノマシンまで	

1. 著者名 中村孝司、原島秀吉	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 580
3. 書名 新規モダリティ医薬品のための新しいDDS技術と製剤化	

〔出願〕 計10件

産業財産権の名称 脂質ナノ粒子	発明者 佐藤悠介、原島秀吉、小沼はるの	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-060960	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 脂質ナノ粒子	発明者 佐藤悠介、佐々木宏輔、原島秀吉	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-085985	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 代謝改善剤	発明者 西英一郎、岩崎広高、大野美紀子、佐藤悠介、原島秀吉	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/027997	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 脂質ナノ粒子	発明者 中村孝司、原島秀吉、佐藤悠介、山田小春、中出泰誠	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-023184	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 溶解剤	発明者 原島秀吉、佐藤悠介、アッパシ サエド アムジャド ヨ	権利者 国立大学法人北海道大学、常翔学園
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/005310	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 脂質ナノ粒子	発明者 佐藤悠介、原島秀吉	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、2020-167928	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 肝細胞癌に有用な脂質ナノ粒子	発明者 原島秀吉、マハムドヨニス、イクラミカリル	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、2020-075619	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 脂質ナノ粒子	発明者 原島秀吉、イブラヒム イクラミ カリル、木村誠悟	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-116594	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 脂質ナノ粒子	発明者 佐藤悠介、原島秀吉、小沼はるの	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-060960	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ミトコンドリアゲノム編集用脂質ナノ粒子	発明者 山田勇磨、原島秀吉、佐藤悠介、他	権利者 国立大学法人北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-027872	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>血管を標的とするナノ医療の実装～Personalized Nanomedicineの北大ブランド化～  <a href="https://www.pharm.hokudai.ac.jp/nano/">https://www.pharm.hokudai.ac.jp/nano/</a>          北海道大学大学院薬学研究院薬剤分子設計学研究室  <a href="https://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakusetu/index.html">https://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakusetu/index.html</a>          国際リポソーム会議2019年  <a href="http://www.knt.co.jp/ec/2019/LRD2019/">http://www.knt.co.jp/ec/2019/LRD2019/</a></p>
---

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	佐藤 悠介  (Sato Yusuke)  (10735624)	北海道大学・薬学研究院・助教    (10101)	
研究分担者	中村 孝司  (Nakamura Takashi)  (20604458)	北海道大学・薬学研究院・助教    (10101)	
研究分担者	山田 勇磨  (Yamada Yuma)  (60451431)	北海道大学・薬学研究院・准教授    (10101)	

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			
エジプト	Assiut University			
インドネシア	Institut Techonologi Bandung			