

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293008

研究課題名(和文)三次元ナノDNA構造体を基本ユニットとする疾患治療システムの開発

研究課題名(英文)Development of therapeutic systems based on three-dimensional DNA nanostructures

研究代表者

西川 元也(Nishikawa, Makiya)

京都大学・薬学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40273437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：三次元ナノDNA構造体を基本ユニットとする疾患治療システムの開発を目的に、構造的特徴の異なる種々のDNA基本ユニットを新たにデザインし、比較検討した。その結果、4本足DNAが最も効率よく形成可能であり、免疫細胞による取り込みも高いことが示された。そこで、自己組織化によりゲル化するシステムを開発し、DNAハイドロゲルを作製した。レオロジー解析の結果、このゲルは非常に速やかにゲル-ゾル転移することで注射投与可能であり、投与後速やかに再ゲル化することも明らかとなった。抗原ペプチドを用いた検討から、カチオン化抗原を利用することで抗原内包DNAハイドロゲルの抗腫瘍効果が著しく向上することを見出した。

研究成果の概要(英文)：To develop therapeutic systems based on three-dimensional DNA nanostructures, we newly designed several types of basic DNA units. The comparison of their properties revealed that tetrapod-like structured DNA was the DNA nanostructure with the highest formation efficiency and uptake by immune cells. Then, a self-assembling gelling system was developed to obtain DNA hydrogel. Rheological analysis revealed that this hydrogel is injectable because of its quick gel-sol transition, and is regelated after injection. We also found that the antitumor effects of antigen-loaded DNA hydrogel can be greatly improved by the use of cationized antigen, which was more slowly released from the hydrogel than unmodified antigen.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：核酸 DNA DDS ハイドロゲル 抗原

1. 研究開始当初の背景

核酸、中でも DNA の 2 重鎖形成能を巧みに利用することで、キューブ状の構造体を構築可能であることが報告されたのを契機として、DNA を利用した様々な構造体構築に関する研究が進められ、「DNA ナノテクノロジー」と総称される技術として発展してきた。申請者は、オリゴデオキシヌクレオチド (ODN) を利用してボトムアップ型 DNA ナノ構造体 - 多足型構造 DNA (polypodna) - を開発し、これを基盤とする DDS 開発研究を開始した。免疫刺激性 CpG DNA を用いたこれまでの研究において、polypodna が免疫細胞への効率的なキャリアであること、polypodna を連結することで DNA ハイドロゲルが構築可能であること、CpG DNA の活性が三次元化により有意に増大すること、を明らかにしてきた。これに加えて、以下の項目について系統的・定量的解析を行うことにより、三次元ナノ DNA 構造体を基本ユニットとする疾患治療システムの開発が可能になるものと考える。

2. 研究の目的

本研究では、polypodna に加えて構造的特徴の異なる DNA 基本ユニットを新たに設計し、形成効率、立体構造、細胞との相互作用について検討することで DNA 基本ユニットの構造活性相関を解明する。最適な DNA 基本ユニットを用いて DNA ハイドロゲルを作製し、これに卵白アルブミン (OVA) およびその抗原ペプチドを内包した疾患治療システムを構築することで、三次元ナノ DNA 構造体を基本ユニットとする疾患治療システム開発の可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) 立体構造の異なる三次元 DNA ナノ構造体の設計と機能評価

細胞

培養細胞として、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞を選択した。別途、健康人から単離したヒト末梢血単核球 (PBMC) をヒト細胞として用いた。

DNA ナノ構造体の作製

4 種類の ODN で形成可能な構造的特徴の異なる DNA ナノ構造体として、4 本足 DNA (tetrapodna)、4 面体 DNA (tetrahedron)、4 辺形 DNA (tetragon) を設計した。各構造体を形成する ODN のうち 1 本 (ODN-1) を共通とした。細胞取り込み実験には、Alexa Fluor-488 で蛍光標識した ODN-1 を用いた。構造体の形成はポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) および DNA/RNA 分析用マイクロチップ電気泳動装置で確認した。

AFM 観察

Nano Live Vision を用いて、雲母上に固定した DNA ナノ構造体の AFM 像を撮像した。

DNA ナノ構造体の物性評価

融解温度 (T_m)、見かけのサイズ、円二色性 (CD) スペクトルを測定した。

細胞取り込み

RAW264.7 細胞またはヒト PBMC に Alexa Fluor-488 標識 DNA を添加し、細胞の蛍光強度をフローサイトメトリーにより測定した。

細胞からのサイトカイン放出

RAW264.7 細胞に各種 CpG DNA を添加し、上清中の TNF- α 濃度を ELISA 法により測定した。ヒト PBMC の場合は IFN- γ 濃度を測定した。

(2) 自己ゲル化核酸を基盤とする DNA ハイドロゲルの開発

Polypodna および DNA ハイドロゲルの調製種々の構造を形成するように設計した 40 塩基の ODN を等モルずつ混合し、アニーリングすることで各 polypodna を得、形成は PAGE で確認した。5' 突出の 2 種類の polypodna の混合により DNA ハイドロゲルを作製した。

DNA ハイドロゲルの粘弾性測定

レオメーターを用いて DNA ハイドロゲルのレオロジー特性を評価した。

^{32}P -DNA 皮内投与後の放射活性の組織分布 [^{32}P]ATP を用いて ^{32}P -標識 DNA サンプルを調製した。マウス背部皮内に ^{32}P 標識 DNA を投与後、投与部位とリンパ節を回収し、放射活性を測定した。

IL-6 の測定

マウスの背部皮内に各種 DNA を投与後、投与部位とリンパ節を回収した。Total RNA を回収し、リアルタイム PCR により IL-6 mRNA 発現を定量した。また血清中 IL-6 濃度を ELISA 法により測定した。

DNA ハイドロゲルからの OVA 放出

FITC 修飾 OVA を 2 種類の hexapodna と混合し、FITC-OVA 内包 DNA ハイドロゲルを調製した。得られた FITC-OVA/DNA hydrogel を Transwell のインサート中に添加し、下層の蛍光強度を経時的に測定した。

抗原提示

DC2.4 細胞に各種 DNA と OVA と CD80OVA1.3 細胞を添加し、上清中 IL-2 濃度を ELISA 法で測定した。

マウスへの免疫

マウスの背部皮内に OVA を各種 DNA と同時に 7 日間隔で 3 回投与した。最終免疫 7 日後に血清および脾臓を回収した。

OVA 特異的免疫応答の評価

マウスから血清を回収し、OVA 特異的抗体価を測定した。また、最終免疫から 7 日後に脾細胞を回収し、OVA 再刺激時の上清中 IFN- γ 濃度を測定した。また、細胞傷害性 T 細胞の活性も評価した。

ヘマトキシリン・エオジン染色

マウス背部から投与部位を回収し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色した切片を顕微鏡下観察した。

脾臓重量の測定

マウスに 7 日間隔で 3 回免疫し、最終免疫から 7 日後に脾臓を回収し、重量を測定した。

(3) 抗原のカチオン化による DNA ハイドロゲルからの徐放化による抗腫瘍免疫の増強

カチオン化 OVA の合成

カルボジイミドを用いて OVA にエチレンジアミン (ED) を縮合し ED-OVA を得た。

ペプチド

OVA の MHC クラス I エピトープ pepI (SIINFEKL) と、これにリンカー (FFRK) を介して 8 個のアルギニン残基を連結した R8-L2-pepI、これらペプチドの N 末の FITC 修飾体は GenScript 社より購入した。

抗原と DNA との複合体形成

電気泳動により複合体形成を評価した。

DNA ハイドロゲルからの抗原の放出

FITC 標識抗原を hexapodna 溶液に添加後に混合することで FITC 標識抗原内包 DNA ハイドロゲルを調製し、(2) と同様の方法で抗原放出を評価した。

抗原提示評価

(2) と同様の方法で評価した。

投与部位からの抗原の消失

マウスの背部皮内に DNA ハイドロゲル内包 FITC-OVA または FITC-ED7-OVA を投与し、投与部位のホモジナイズ上清中の蛍光強度を測定した。

マウスへの免疫

マウスの背部皮内に OVA あるいは ED7-OVA と DNA を 7 日間隔で 3 回免疫した。最終免疫 7 日後に血清と脾臓を回収した。

OVA 特異的免疫応答の評価

(2) と同様の方法で評価した。

ヘマトキシリン・エオジン染色

マウスの背部皮内に 3 回免疫し、最終免疫 7 日後に (2) と同様の方法で HE 染色した。

抗腫瘍効果

EG7-OVA 細胞をマウスの背部皮内に移植した。各サンプルを腫瘍内投与し、経時的に腫瘍体積を算出した。

4. 研究成果

(1) 立体構造の異なる三次元 DNA ナノ構造体の設計と機能評価

DNA ナノ構造体の形成確認

電気泳動上、tetrapodna はいずれの DNA 濃度においても一本のバンドが得られた。一方、tetrahedron のバンドは DNA 濃度の上昇に伴い薄くなり、泳動されない凝集体が認められた。Tetragon の場合も高 DNA 濃度時に複数のバンドが認められた。移動度は tetrahedron が最も大きく、tetrapodna、tetragon の順であった。すべての DNA ナノ構造体は 220 ヌクレオチドで構成されることから、泳動度の違いは立体構造によると考えられる。AFM 観察では、それぞれ特徴的な構造が認められた。

DNA ナノ構造体の T_m と見かけのサイズ

熱安定性の指標である T_m は tetrapodna が最も高かった。見かけのサイズはいずれの構造体も約 8 nm と見積もられた。

DNA ナノ構造体の CD スペクトル

いずれも代表的な B 型 DNA のスペクトルを示し、構造体間で違いは認められなかった。

Alexa Fluor-488 標識 DNA ナノ構造体の RAW264.7 細胞による取り込み

Alexa Fluor-488 標識 tetrahedron が最も細胞取り込みが高く、tetrapodna、tetragon、一本鎖 DNA の順であった。

CpG DNA ナノ構造体添加後の RAW264.7 細胞からの TNF- 放出

CpG tetrahedron が最も高い TNF- 産生を示し、次いで CpG tetrapodna であった。CpG モチーフを含まない DNA 構造体の添加では TNF- はほとんど放出されなかった。

ヒト PBMC での評価

ヒト PBMC でも Alexa Fluor-488 標識 tetrahedron が最も取り込みが高く、それ以外は明確な取り込みは認められなかった。CpG DNA 添加後の IFN- 産生は、一本鎖 CpG DNA と比較するといずれの DNA ナノ構造体の場合も高い傾向が認められた。PBMC には CpG DNA のレセプターである TLR9 を発現する形質細胞様樹状細胞 (pDC) が含まれており、これが IFN- を産生したと考えられる。PBMC 中の pDC 割合は非常に低いため、tetrahedron の高い細胞取り込みは pDC 以外の細胞によるものと考えられた。

以上の結果から、tetrapodna が最も効率よく形成可能な DNA ナノ構造体であることが明らかとなった。その理由として熱安定性の高さが挙げられる。高い DNA 濃度でも凝集体が形成されない特性は、DNA 構造体を基盤とする DDS 開発に非常に重要な性質である。以上より、DDS 開発に有効な DNA ナノ構造体として tetrapodna に代表される polyodna (多足型構造 DNA) が適していると結論づけた。

(2) 自己ゲル化核酸を基盤とする DNA ハイドロゲルの開発

DNA ハイドロゲルの粘弾性

レオロジー解析の結果、DNA ハイドロゲルは微小歪み下では破壊されず、固体的な特性を有すること、大きな歪み存在下では非線形流動を示すことが明らかとなった。したがって、ハイドロゲルの粘弾性は hexapodna 間の物理ネットワークにより決定付けられており、歪みが大きい場合にはこのネットワークの崩壊と再構築が行われると考えられた。以上の結果から、本 DNA ハイドロゲルは、シリンジ投与が可能であり、投与後速やかにゲル特性を回復する非常にユニークかつ DDS に適した特性を有することを見出した。

DNA ハイドロゲルの組織分布

^{32}P 標識一本鎖 CpG DNA あるいは ^{32}P 標識 CpG hexapodna は投与部位から急速に消失した。これとは対照的に、 ^{32}P 標識 CpG DNA hydrogel は投与部位に長時間検出され、半減期約 12 時間で消失した。

CpG DNA の組織分布と IL-6 発現の上昇

CpG hexapodna と CpG DNA hydrogel では投与 6 時間で IL-6 mRNA 発現が有意に増大した。CpG DNA hydrogel 投与群では投与 24 時間後も高値を示した。一方、血清中の IL-6 濃度は非常に低く、CpG DNA hydrogel は DNA が滞留および移行する局所において IL-6 発現を増大させることが示唆された。

抗原提示能評価

OVA の抗原提示は、CpG DNA hydrogel を添加することで有意に増大した。

OVA 内包 DNA ハイドロゲルによる抗原特異的免疫応答の誘導

一本鎖 CpG DNA または CpG hexapodna 免疫群と比較して、OVA 内包 CpG DNA hydrogel 免疫群において有意に高い血清中抗体価が得られた。OVA 再刺激後の脾細胞からの IFN- γ 産生も CpG DNA hydrogel 投与群で高かった。また、OVA を発現する EG7-OVA 細胞に対する細胞傷害性 T 細胞活性も CpG DNA hydrogel 投与群が有意に高い活性を示した。

DNA ハイドロゲルによる炎症性副作用

Freund の完全アジュバント (CFA) あるいは臨床で用いられるアジュバントであるアラム投与群では、投与部位で皮膚の肥厚と、炎症性細胞の浸潤が認められたのに対し、CpG DNA ハイドロゲル投与群では、顕著な変化は認められなかった。また、CFA 投与群で脾臓の肥大化が顕著だったのに対し、DNA ハイドロゲル投与群では認められなかった。以上より、DNA ハイドロゲルは炎症性副作用を強く誘導しないことが示唆された。

(3) 抗原のカチオン化による DNA ハイドロゲルからの徐放化による抗腫瘍免疫の増強

カチオン化 OVA の合成

OVA 一分子当たりのカルボキシル基の平均修飾数が 7.3 の ED7-OVA と 16.7 の ED17-OVA を合成した。アミノ酸構成と修飾数から総電荷を計算したところ、どちらの ED-OVA も正電荷を有するものと考えられた。また、ED-OVA について SDS-PAGE を行ったところ、OVA とほぼ同じ位置に単一バンドが認められたことから、オリゴマー (重合体) は形成されていないことが示唆された。

カチオン化 OVA と DNA との相互作用

OVA あるいは ED-OVA と hexapodna との複合体形成を PAGE により評価した結果、ED-OVA の混合割合を多くする程、PAGE における DNA の移動度が低下した。一方で、OVA では hexapodna と混合しても DNA の移動度は変化しなかった。以上より、ED-OVA と DNA を混合することで、静電的相互作用による複合体が形成されることが示唆された。

カチオン化 OVA の DNA ハイドロゲルからの放出

FITC-OVA は DNA ハイドロゲルから 1 時間以内に 80% 以上が放出されたのに対し、FITC-ED-OVA の放出は緩やかであった。また、FITC-ED7-OVA と比較して FITC-ED17-OVA の放出が遅かったことから、放出速度は修飾数に依存して遅延することも示された。

カチオン化 OVA の抗原提示細胞による取り込みおよび抗原提示能評価

マウス樹状細胞株 DC2.4 細胞によるカチオン化 OVA の細胞取り込み及び抗原提示を評価した。FITC-ED-OVA 添加群は FITC-OVA 添加群と比較して高い平均蛍光強度値を示した。また、CpG DNA ハイドロゲルの添加により、

FITC-ED-OVA の細胞取り込みは有意に増大した。一方で、FITC-OVA の細胞取り込みは CpG DNA ハイドロゲルを添加しても増大しなかった。抗原提示に関しては、OVA と比較して ED-OVA 添加群において高い IL-2 産生が見られた。ED-OVA を比較すると、修飾率の低い ED7-OVA でより高い抗原提示が得られた。これはエピトープへの修飾によるものと推察した。さらに、ED7-OVA に DNA ハイドロゲルを添加することで IL-2 産生が有意に増大した。以上より、以降の検討にはより効率的に抗原提示される ED7-OVA を用いることとした。

カチオン化 OVA の投与部位滞留性

FITC-OVA 投与後の投与部位における蛍光強度は急速に低下した。また、FITC-OVA では CpG DNA ハイドロゲルに内包した場合においても消失速度に変化は認められなかった。一方で、FITC-ED7-OVA の投与部位からの消失は緩やかであった。さらに、CpG DNA ハイドロゲルに内包することで投与部位滞留性が有意に上昇した。このことから、カチオン化抗原を利用することで DNA ハイドロゲルからの抗原放出を遅延可能なことが示唆された。

カチオン化 OVA による抗原特異的免疫応答の誘導

OVA 投与群と比較して、ED7-OVA 投与群において高い OVA 特異的抗体価が認められた。ED7-OVA/CpG DNA ハイドロゲル投与群では、ED7-OVA 単独投与群よりも高い抗体価が得られた。OVA で再刺激後の脾細胞からの IFN- γ 産生は、OVA 単独投与群と比較して ED7-OVA 単独投与群で高い結果となった。また、ED7-OVA/CpG DNA ハイドロゲルの投与により、ED7-OVA 単独あるいは OVA/CpG DNA ハイドロゲルよりも高い IFN- γ 産生が認められた。

カチオン化ペプチドの DNA ハイドロゲルからの放出性

低コストで大量合成が可能、品質管理が容易で安全性が高い、投与量の増大が可能などの優位性を持つペプチドワクチンの利用を試みた。FITC-pep1 または FITC-R8-L2-pep1 を DNA ハイドロゲルに内包し、放出挙動を評価した結果、FITC-R8-L2-pep1 の DNA ハイドロゲルからの放出は FITC-pep1 と比較して遅延した。

カチオン化抗原ペプチドによる抗腫瘍効果

EG7-OVA 担癌マウスを作製し、その腫瘍内に R8-L2-pep1/CpG DNA ハイドロゲルを投与したときの腫瘍体積およびマウスの生存率から抗腫瘍効果を評価した。その結果、R8-L2-pep1/CpG DNA ハイドロゲル投与群では生理食塩水投与群と比較して腫瘍増殖が有意に抑制され、生存率も有意に上昇した。また、R8-L2-pep1/CpG DNA ハイドロゲルの投与により、6 匹中 5 匹で腫瘍が完全に退縮した。

以上より、DNA ハイドロゲルからの抗原放出の遅延は、抗原特異的な免疫応答の誘導に有効であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

- (1) Takahashi Y, Maezawa T, Araie Y, Takahashi Y, Takakura Y, Nishikawa M. In vitro and in vivo stimulation of Toll-like receptor 9 by CpG oligodeoxynucleotides incorporated into polypod-like DNA nanostructures. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017; in press. doi: 10.1016/j.xphs.2017.03.028. 査読有
- (2) Sanada Y, Shiomi T, Okobira T, Tan M, Nishikawa M, Akiba I, Takakura Y, Sakurai K. Polypod-shaped DNAs: small angle x-ray scattering and immunostimulatory activity. *Langmuir* 2016; 32: 3760-3765. doi: 10.1021/acs.langmuir.6b00398. 査読有
- (3) Nishida Y, Ohtsuki S, Araie Y, Umeki Y, Endo M, Emura T, Hidaka K, Sugiyama H, Takahashi Y, Takakura Y, Nishikawa M. Self-assembling DNA hydrogel-based delivery of immunoinhibitory nucleic acids to immune cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2016; 12: 123-130. doi: 10.1016/j.nano.2015.08.004. 査読有
- (4) Shiomi T, Tan M, Takahashi N, Endo M, Emura T, Hidaka K, Sugiyama H, Takahashi Y, Takakura Y, Nishikawa M. Atomic force microscopy analysis of orientation and bending of oligodeoxynucleotides in polypod-like structured DNA. *Nano Research* 2015; 8: 3764-3771. doi: 10.1007/s12274-015-0875-y. 査読有
- (5) Yata T, Takahashi Y, Tan M, Hidaka K, Sugiyama H, Endo M, Takakura Y, Nishikawa M. Efficient amplification of self-gelling polypod-like structured DNA by rolling circle amplification and enzymatic digestion. *Scientific Reports* 2015; 5: 14979. doi: 10.1038/srep14979. 査読有
- (6) Ohtsuki S, Matsuzaki N, Mohri K, Endo M, Emura T, Hidaka K, Sugiyama H, Takahashi Y, Ishiyama K, Kadowaki N, Takakura Y, Nishikawa M. Optimal arrangement of four short DNA strands for delivery of immunostimulatory nucleic acids to immune cells. *Nucleic Acid Therapeutics* 2015; 25: 245-253. doi: 10.1089/nat.2014.0524. 査読有
- (7) Umeki Y, Mohri K, Kawasaki Y, Watanabe H, Takahashi R, Takahashi Y, Takakura Y, Nishikawa M. Induction of potent antitumor immunity by sustained release of cationic antigen from a DNA-based hydrogel with adjuvant activity. *Advanced Functional Materials* 2015; 25: 5758 - 5767. doi: 10.1002/adfm.201502139. 査読有
- (8) Mohri K, Kusuki E, Ohtsuki S, Takahashi

- N, Endo M, Hidaka K, Sugiyama H, Takahashi Y, Takakura Y, Nishikawa M. Self-assembling DNA dendrimer for effective delivery of immunostimulatory CpG DNA to immune cells. *Biomacromolecules* 2015; 16: 1095-1101. doi: 10.1021/bm501731f. 査読有
- (9) Ishii-Mizuno Y, Umeki Y, Takahashi Y, Kato Y, Takabayashi T, Fujieda S, Takakura Y, Nishikawa M. Nasal delivery of Japanese cedar pollen Cryj1 by using self-gelling immunostimulatory DNA for effective induction of immune responses in mice. *Journal of Controlled Release* 2015; 200: 52-59. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.12.040. 査読有

〔学会発表〕(計27件)

- (1) 梅木佑夏、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . 抗原内包免疫刺激性 DNA ハイドロゲルへの免疫細胞の組み込みによる抗腫瘍免疫の増強 . 日本薬学会第 137 年会 2017/3/25-27 , 仙台
- (2) 西川元也、高倉喜信 . ナノ構造化核酸を基盤とする核酸医薬のデリバリー戦略 . 日本核酸医薬学会第 2 年会 , 2016/11/15-17 , 東京
- (3) 大槻昇三、高橋有己、梅村圭祐、井上貴雄、高倉喜信、西川元也 . ヒト MSR-1 導入 HEK-Blue hTLR9 細胞を用いた核酸医薬の免疫活性評価 . 日本核酸医薬学会第 2 年会 , 2016/11/15-17 , 東京
- (4) 西川元也 . DNA を基盤とするドラッグデリバリーシステムの開発 . 第 3 回 関西バイオ創薬研究会 , 2016/10/21 , 大阪
- (5) 西川元也、高橋有己、高倉喜信 . アジュバント活性を有する DNA ハイドロゲルからの抗原徐放化による抗腫瘍免疫の効率の誘導 . 第 75 回日本癌学会学術総会 , 2016/10/6-8 , 横浜
- (6) 西川元也 . 核酸医薬の実用化に求められる核酸デリバリーシステムの開発 . 第 32 回日本 DDS 学会学術集会 , 2016/6/30-7/1 , 静岡
- (7) Yuki Araie, Yuki Takahashi, Yoshinobu Takakura, Makiya Nishikawa. Enhanced activity of immunosuppressive oligodeoxynucleotides by incorporating into hexapod-like nanostructured DNA. The 1st Workshop for Japan-Korea Young Scientists on Pharmaceuticals, 2016/6/24-25, Kyoto
- (8) 梅木佑夏、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . 免疫刺激性 DNA ハイドロゲルからのカチオン化抗原の徐放化による抗腫瘍免疫の増強 . 日本薬剤学会第 31 年会 , 2016/5/19-21 , 岐阜
- (9) 譚萌萌、矢田智也、村上達也、中辻博貴、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . 光熱免疫療法のための複合材料型 DNA ハイドロゲルの開

発 .日本薬学会第 31 年会 ,2016/5/19-21 ,
岐阜

(10) 西川元也 . ナノ構造化核酸を基盤とする薬物・核酸デリバリーシステムの開発 . 第 16 回遺伝子・デリバリー研究会シンポジウム ,
2016/5/16 , 川崎

(11) 大槻昇三、高橋有己、井上貴雄、高倉喜信、西川元也 . 三次元構造化 DNA の免疫細胞および非免疫細胞との相互作用解析 . 日本薬学会第 136 年会 , 2016/3/26-29 , 横浜

(12) Makiya Nishikawa . Polypod-like structured DNA for delivery of bioactive compounds . University Bordeaux-Kyoto University Mini-Symposium on Biomolecular Science , 2016/1/25 , Kyoto

(13) 譚萌萌、塩見朋紀、高橋夏樹、遠藤政幸、江村智子、日高久美、杉山 弘、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . 原子間力顕微鏡観察による polypodna 中の DNA 配向性の解明 . 日本核酸医薬学会第 1 回年会 ,
2015/11/30-12/2 , 京都

(14) 野村大貴、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . DNA ハイドロゲルを利用した CpG DNA の経腔投与による腔粘膜免疫の持続的活性化 . 日本核酸医薬学会第 1 回年会 ,
2015/11/30-12/2 , 京都

(15) 大槻昇三、高橋有己、井上貴雄、高倉喜信、西川元也 . ナノ構造体化を利用した免疫刺激性 DNA によるヒト細胞からのサイトカイン産生の増強 . 日本核酸医薬学会第 1 回年会 ,
2015/11/30-12/2 , 京都

(16) 梅木佑夏、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . 生体内安定性の向上を目的とした G カルテット構造を組み込んだ DNA ハイドロゲルの開発と機能評価 . 日本核酸医薬学会第 1 回年会 ,
2015/11/30-12/2 , 京都

(17) 矢田智也、高橋有己、譚萌萌、日高久美、遠藤政幸、杉山 弘、高倉喜信、西川元也 . RCA 法および酵素消化の組み合わせによる自己ゲル化多足型 DNA 構造体の効率的増幅 . 日本核酸医薬学会第 1 回年会 ,
2015/11/30-12/2 , 京都

(18) 大槻昇三、西川元也、Tatu Lajunen、毛利浩太、井上貴雄、高橋有己、高倉喜信 . 免疫細胞への選択的デリバリーを目的としたナノ構造化 DNA の開発 . 第 31 回日本 DDS 学会学術集会 , 2015/7/2-3 , 東京

(19) 西川元也、井上貴雄 . 核酸医薬の開発 : 現状と将来展望 . 日本薬学会第 30 年会 ,
2015/5/21-23 , 長崎

(20) 梅木佑夏、西川元也、毛利浩太、高橋有己、高倉喜信 . 免疫刺激性 DNA で構成した DNA ハイドロゲルからの抗原徐放化による抗腫瘍免疫誘導の増強 . 遺伝子・デリバリー研究会第 15 回シンポジウム , 2015/5/1 , 京都

(21) 水野由美子、梅木佑夏、高橋有己、高倉喜信、西川元也 . DNA ハイドロゲルを用いた Cryj1 の経鼻デリバリーによるスギ花粉症に対する免疫療法の開発 . 日本薬学会第 135 年会 , 2015/3/25-28 , 神戸

(22) Yuka Umeki、Makiya Nishikawa . Self-gelatinizable nucleic acid-based sustained delivery of immunostimulatory DNA and antigen for induction of antitumor immunity in mice . 第 5 回発がんスパイラル国際シンポジウム , 2015/2/26-27 , 神戸

(23) 塩見朋紀、西川元也、毛利浩太、真田雄介、櫻井和朗、高橋有己、高倉喜信 . 多足型 DNA の pod 数依存的な溶液内立体構造と細胞取り込みとの相関解析 . アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム 2014 ,
2014/9/8-9 , 東京

(24) Shozo Ohtsuki、Makiya Nishikawa、Noriyuki Matsuzaki、Kohta Mohri、Masayuki Endo、Hiroshi Sugiyama、Yuki Takahashi、Yoshinobu Takakura . Optimization of DNA nanostructure for delivery of nucleic acid drugs to immune cells . GPEN 2014 ,
2014/8/27-30 , Helsinki , Finland

(25) 西川元也、高倉喜信 . DNA ナノテクノロジーを基盤とする核酸医薬のデリバリー . 第 30 回日本 DDS 学会学術集会 , 2014/7/30-31 , 東京

(26) 大槻昇三、西川元也、毛利浩太、松崎憲幸、遠藤政幸、日高久美、杉山 弘、高橋有己、高倉喜信 . 免疫刺激性 DNA の免疫細胞へのデリバリーのための DNA ナノ構造体の設計 . 日本薬学会第 29 年会 , 2014/5/20-22 , 大宮

(27) 塩見朋紀、西川元也、高橋夏樹、真田雄介、櫻井和朗、高橋有己、高倉喜信 . 小角 X 線散乱による構造解析に基づく多足型 DNA の構造活性相関の解明 . 日本薬学会第 29 年会 , 2014/5/20-22 , 大宮

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

西川 元也 (NISHIKAWA, Makiya)
京都大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号 : 4 0 2 7 3 4 3 7

(2) 研究分担者

高倉 喜信 (TAKAKURA, Yoshinobu)
京都大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号 : 3 0 1 7 1 4 3 2

高橋 有己 (TAKAHASHI, Yuki)
京都大学・大学院薬学研究科・助教
研究者番号 : 0 0 5 4 7 8 7 0

(3) 連携研究者

遠藤 政幸 (ENDO Masayuki)
京都大学・物質 - 細胞統合システム拠点・
准教授
研究者番号 : 7 0 3 3 5 3 8 9

渡辺 宏 (WATANABE Hiroshi)
京都大学・化学研究所・教授
研究者番号 : 9 0 6 1 7 1 6 4