

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22627

研究課題名（和文）細胞認識性エクソソームを用いた臓器線維症に対する革新的治療法の開発

研究課題名（英文）Novel therapy for organ fibrosis using bioengineered exosomes

研究代表者

稲垣 豊（INAGAKI, YUTAKA）

東海大学・医学部・教授

研究者番号：80193548

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、エクソソームを利用した薬物送達の新たな方法論を提案することを目的とした。はじめに、ルシフェラーゼあるいはmCherry/EGFPをエクソソーム内包タンパク質として培養液中に分泌する発現プラスミドを構築し、モニタリング用エクソソームとして用いた。これらのエクソソームを、炭酸アパタイトナノ粒子を用いて修飾することで、エクソソームの細胞内取り込みとエンドソームからサイトゾルへの移行が促進した。また、肝細胞膜上のアシアロ糖蛋白質受容体が認識するガラクトース鎖を用いてエクソソームを修飾すると、肝細胞への取り込み効率が向上することをin vitroならびにin vivoの系で明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、タンパク質医薬品や核酸医薬品等のバイオ医薬品の開発が進んでおり、これら生体高分子の送達手段(DDS)として期待されている素材のひとつとしてエクソソームが挙げられる。しかしながら、DDSキャリアとしてのエクソソームの利用には、エクソソーム自身の細胞内取り込み効率の低さ、エクソソーム内包物質のサイトゾルへの低脱出性による効果の減弱、標的細胞以外への送達による副作用の発現といったいくつかの問題点が挙げられる。本研究成果により、エクソソームの取り込み効率やサイトゾル脱出性の改善、ならびに肝細胞指向性の向上が得られ、新規DDSキャリアとしての開発に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the effects of the modification of exosomes with carbonate apatite or a lactose-carrying polymer. Using newly generated monitoring exosomes that contain either firefly luciferase or fused mCherry/enhanced green fluorescent protein, we demonstrated that the modification of exosomes with carbonate apatite improved their uptake and the release from the endosome to the cytosol in recipient cells. Meanwhile, the modification of exosomes with a lactose-carrying polymer enhanced the selective delivery to parenchymal hepatocytes. These modified exosomes may provide an efficient strategy for macromolecule therapy for incurable diseases that cannot be treated with conventional small-molecule compounds.

研究分野：肝臓学

キーワード：肝臓学 エクソソーム 薬物送達

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

近年、タンパク質医薬品や核酸医薬品等のバイオ医薬品の開発が進んでいる。一方、タンパク質や核酸は分子量が大きいことから細胞膜透過に制限があり、タンパク質医薬品では免疫原性も懸念される。したがって、その実用化にはこれら生体高分子の体内動態を制御する DDS (Drug Delivery System) の技術開発が必要である。

このような生体高分子の DDS として期待されている素材として、エクソソームが挙げられる。エクソソームは 50~150 nm の直径を持つ細胞外分泌小胞の一部であり、体液中を循環することで遠く離れた細胞へ情報を伝達する。また、生体内で産生される物質であるため、細胞毒性や免疫原性・造腫瘍性は極めて低く、疾患治療における次世代の天然 DDS キャリアーとしての活用が期待されている。しかしながら、エクソソーム自体の細胞内取り込み効率の低さや、リソソーム酵素によるエクソソーム内包物質の分解がもたらす効果の減弱、さらには標的細胞以外への送達による副作用の発現といった問題点がある。

2. 研究の目的

本研究は、エクソソームに新たな修飾を加えることで、細胞内への取り込みやサイトゾル移行性といった利用効率の向上、ならびに標的細胞指向性の付加を行い、新規 DDS キャリアーを開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) モニタリング用エクソソームの作製：

エクソソームの利用効率や細胞内局在を評価するため、ホタル・ルシフェラーゼまたは mCherry/EGFP 融合タンパク質を内包するモニタリング用エクソソームを作製した。目的タンパク質をエクソソーム内に効率的に内包し、培養上清中に分泌することが可能なエクソソーム認識タグを有する発現プラスミドに、ホタル・ルシフェラーゼまたは mCherry/EGFP 融合タンパク質の cDNA をクローニングした。これらを HEK293T 細胞にトランスフェクションし、その培養上清からルシフェラーゼまたは mCherry/EGFP 搭載エクソソームを分離・精製した。この際、翻訳開始点(ATG)がエクソソーム認識タグとルシフェラーゼ遺伝子の双方に存在する場合と、後者の翻訳開始点を欠失させた場合とで、ルシフェラーゼ搭載エクソソームの産生と分泌を定量的に比較検討した。

(2) エクソソーム内包タンパク質の利用効率の評価：

上記のルシフェラーゼ搭載エクソソームをマウスの初代肝細胞の培養上清中に添加し、経時的に培養上清と細胞抽出液を回収し、そのルシフェラーゼ・アッセイを行うことでエクソソーム内包タンパク質の利用効率を評価した。

(3) エクソソーム内包タンパク質のサイトゾル移行性の評価：

エクソソーム内包タンパク質のサイトゾルへの移行を、細胞内に取り込まれたエクソソームが初期エンドソームから後期エンドソーム、さらにリソソームへ輸送される際に pH が低下することと、EGFP が pH 低下により消光する性質を利用し、mCherry/EGFP 搭載エクソソームの蛍光観察により評価した。

(4) 炭酸アパタイトナノ粒子を用いたエクソソームの修飾：

上記のルシフェラーゼ搭載エクソソームに対して炭酸アパタイトナノ粒子による修飾を行い、これを取り込んだマウス初代培養肝細胞ならびにマウス肝組織抽出液のルシフェラーゼ・アッセイにより、利用効率の改善を *in vitro* ならびに *in vivo* において検討した。

(5) 糖鎖を用いたエクソソームの修飾：

肝実質細胞ならびに非実質細胞への指向性を付加するため、ポリ-L-リジン主鎖にそれぞれガラクトース側鎖あるいは N-アセチルグルコサミン側鎖を結合させた 2 種類の糖鎖 (Plys-LA および Plys-GlcNac) を用いてエクソソームの修飾を行い、共焦点レーザー顕微鏡観察によりその効果を *in vitro* ならびに *in vivo* において検討した。

4. 研究成果

(1) 作製されたモニタリング用エクソソームの性状：

ルシフェラーゼ発現プラスミドを導入した HEK293T 細胞からは、直径 50~150 nm のエクソソームが分泌され、その膜電位 (ζ 電位) は負の荷電を示した (図 1)。

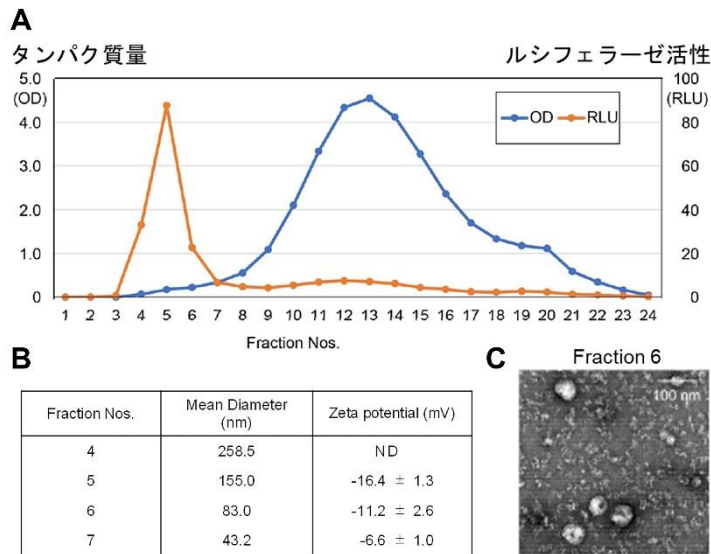


図 1. 培養上清から抽出したエクソソームの性状

培養上清中のルシフェラーゼ搭載エクソソームをサイズ排除クロマトグラフィー法を用いて分画し、そのタンパク質量とルシフェラーゼ活性 (A)、粒子径 (B) を測定した。このうち、画分 6 については電顕観察を行った (C)。

この分泌エクソソーム中には導入 24 時間後をピークにルシフェラーゼ活性が確認され、その活性はルシフェラーゼ遺伝子独自の転写開始点を欠損させることで約 2 倍に増加した。同様に、mCherry/EGFP 発現プラスミドを導入した HEK293T 細胞の細胞質と培養上清のエクソソーム分画には、両蛍光の共局在が確認された (図 2)。

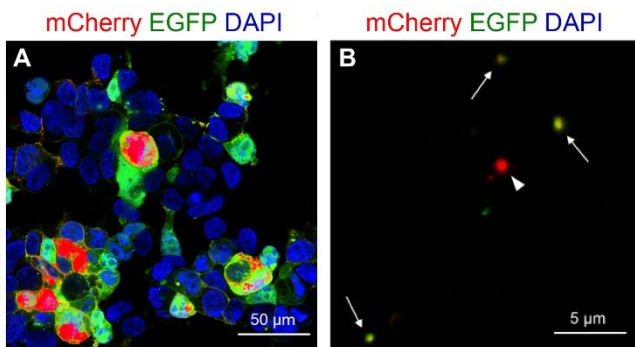


図 2. mCherry/EGFP 搭載エクソソームの産生と分泌

HEK293T 細胞の細胞質 (A) と培養上清中のエクソソーム分画 (B) 中に存在する mCherry/EGFP 搭載エクソソーム (矢印) を示す。

(2) 炭酸アパタイトナノ粒子修飾による利用効率の改善：

ルシフェラーゼ搭載エクソソームに対して炭酸アパタイトナノ粒子を用いた修飾を行ったところ、エクソソーム表面の電位は正方向へシフトした。未修飾のルシフェラーゼ搭載エクソソームを初代肝細胞の培養上清に加えた際には、添加後 3 時間において肝細胞中にルシフェラーゼ活性は確認されなかった。しかしながら、一定の混合比率の炭酸アパタイトナノ粒子を用いた修飾により、ルシフェラーゼ活性は有意に増加した (図 3)。

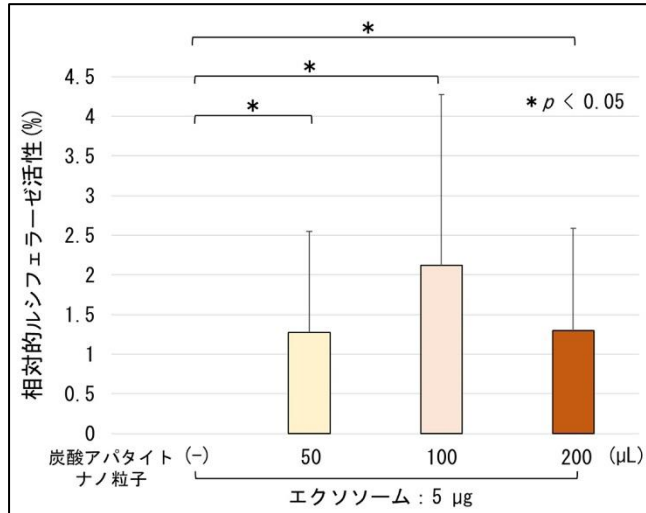


図 3. エクソソームの利用効率の改善

ルシフェラーゼ搭載エクソソームを取り込んだ初代培養肝細胞のルシフェラーゼ活性を、培養上清中に添加したエクソソームの総ルシフェラーゼ活性に対する相対値として示す。

また、初代培養肝細胞に mCherry/EGFP 搭載エクソソームを添加した検討では、未修飾の mCherry/EGFP 搭載エクソソームを投与した場合に比して mCherry/EGFP を共発現するエクソソームが増加し、エクソソーム内包物質がエンドソームからリソソームに移行する前に、サイトゾルへと移行することが示唆された (図 4)。

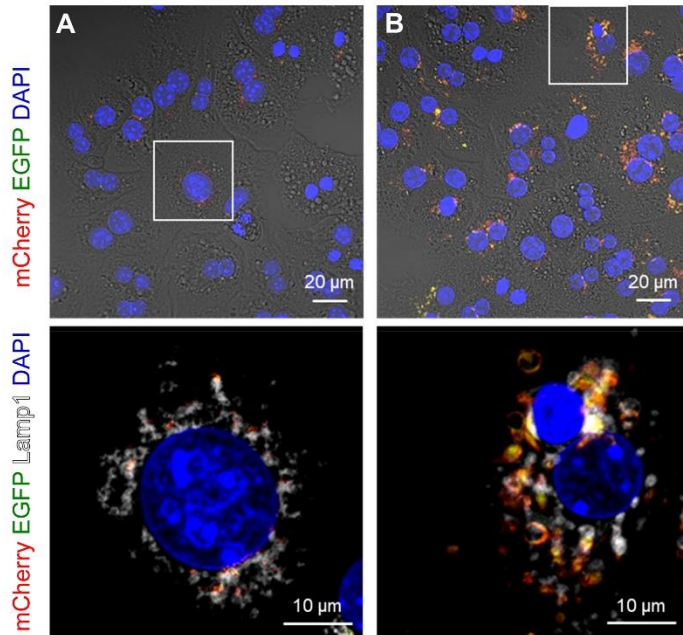


図 4. エクソソーム内包タンパク質の改善

mCherry/EGFP 搭載エクソソームを未修飾 (A) もしくは炭酸アパタイトナノ粒子と混合 (B) した上で、初代肝細胞の培養上清中に添加した。上段の写真中の白枠を拡大して、リソソームのマーカーである Lamp1 の免疫蛍光染色とともに下段に示す。

さらに、ルシフェラーゼ搭載エクソソームをマウスの静脈内に投与すると、3時間後の肝組織におけるルシフェラーゼ活性は、炭酸アパタイトナノ粒子を用いた修飾により有意に増加した(図5)。

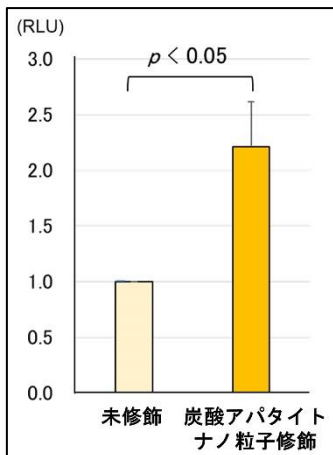


図5. マウス肝臓における利用効率の改善

ルシフェラーゼ搭載エクソソームを静脈内投与したマウスの肝組織におけるルシフェラーゼ活性を、炭酸アパタイトナノ粒子を用いた修飾の有無で比較した。

RLU, relative luminescence unit.

炭酸アパタイトナノ粒子の陽電位が負に荷電したエクソソームとの結合を強化すると同時に、同じく負の電荷を有する細胞表面への接着と取り込みを促進する機序が考えられた。さらに、炭酸アパタイトナノ粒子は酸性条件で容易に崩壊するため、エクソソーム内包タンパク質がリソソーム酵素により分解される前にエンドソーム膜を破壊して、内包分子のサイトゾルへの移行を促進する可能性が考えられた。

(3) ガラクトース鎖修飾による肝細胞指向性の向上:

初代培養肝細胞に糖鎖修飾したルシフェラーゼ搭載エクソソームを添加した検討では、細胞内のルシフェラーゼ活性は未修飾時や Plys-GlcNac 修飾と比較して、Plys-LA 修飾により有意に増加した。また、マウスに静脈投与を行った検討において、未修飾エクソソームの大部分が F4/80 陽性のクッパー細胞内に観察されたのに対して、Plys-LA 修飾は肝実質細胞に取り込まれるエクソソーム数を有意に増加させた(図6)。

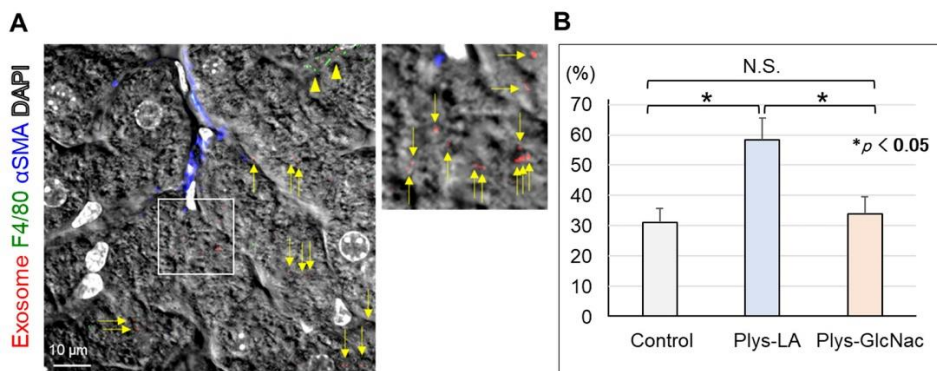


図6. ガラクトース鎖修飾を行ったエクソソームの肝実質細胞への取り込み

蛍光標識したエクソソームを未標識 (Control)、ガラクトース鎖修飾 (Plys-LA)、あるいは N-アセチルグルコサミン修飾 (Plys-GlcNac) を行った上で、マウスの静脈内に投与した。3時間後に摘出した肝組織の共焦点顕微鏡像 (A) と、エクソソーム (矢印) を取り込んだ肝実質細胞の全肝実質細胞に対する割合 (B) を示す。N.S., not significant.

ガラクトースは肝実質細胞が有するアシアロ糖蛋白質受容体によって認識される一方で、N-アセチルグルコサミンは Kupffer 細胞や活性型星細胞等の非実質細胞に発現するビメンチンとデスミンに結合する。本研究では肝実質細胞を標的とし、Plys-LA 修飾が *in vitro* および *in vivo* においてエクソソームの選択的送達を促進することを示した。これらの所見は、先天性酵素欠損症のような疾患に対して、肝実質細胞を標的とする効率的なエクソソーム治療の可能性を示すものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計29件（うち査読付論文 23件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Tsukui Tatsuya, Ueha Satoshi, Shichino Shigeyuki, Hashimoto Shinichi, Nakajima Takuya, Shiraishi Kazushige, Kihara Miho, Kiyonari Hiroshi, Inagaki Yutaka, Matsushima Kouji	4. 巻 514
2. 論文標題 Gli signaling pathway modulates fibroblast activation and facilitates scar formation in pulmonary fibrosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 684 ~ 690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.05.011	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 Ichikawa Tomomi, Hirahara Kiyoshi, Kokubo Kota, Kiuchi Masahiro, Aoki Ami, Morimoto Yuki, Kumagai Jin, Onodera Atsushi, Mato Naoko, Tumes Damon J., Goto Yoshiyuki, Hagiwara Koichi, Inagaki Yutaka, Sparwasser Tim, Tobe Kazuyuki, Nakayama Toshinori	4. 巻 20
2. 論文標題 CD103hi Treg cells constrain lung fibrosis induced by CD103lo tissue-resident pathogenic CD4 T cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 1469 ~ 1480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-019-0494-y	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 Asakawa Masahiro, Itoh Michiko, Suganami Takayoshi, Sakai Takeru, Kanai Sayaka, Shirakawa Ibuki, Yuan Xunmei, Hatayama Tomomi, Shimada Shu, Akiyama Yoshimitsu, Fujiu Katsuhito, Inagaki Yutaka, Manabe Ichiro, Yamaoka Shoji, Yamada Tetsuya, Tanaka Shinji, Ogawa Yoshihiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Upregulation of cancer-associated gene expression in activated fibroblasts in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-56039-0	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 Kurashima Yosuke, Tokuhara Daisuke, Kamioka Mariko, Inagaki Yutaka, Kiyono Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Intrinsic Control of Surface Immune and Epithelial Homeostasis by Tissue-Resident Gut Stromal Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.01281	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 Nakano Yasuhiro, Kamiya Akihideo, Sumiyoshi Hideaki, Tsuruya Kota, Kagawa Tatehiro, Inagaki Yutaka	4. 巻 71
2. 論文標題 A Deactivation Factor of Fibrogenic Hepatic Stellate Cells Induces Regression of Liver Fibrosis in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology	6. 最初と最後の頁 1437 ~ 1452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep.30965	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 Imai Jin, Yahata Takashi, Ichikawa Hitoshi, Ibrahim Abd Aziz, Yazawa Masaki, Sumiyoshi Hideaki, Inagaki Yutaka, Matsushima Masashi, Suzuki Takayoshi, Mine Tetsuya, Ando Kiyoshi, Miyata Toshio, Hozumi Katsuto	4. 巻 18
2. 論文標題 Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 attenuates against intestinal fibrosis in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Intestinal Research	6. 最初と最後の頁 219 ~ 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5217/ir.2019.00037	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 Chikada Hiromi, Ida Kinuyo, Nishikawa Yuji, Inagaki Yutaka, Kamiya Akihideo	4. 巻 10
2. 論文標題 Liver-specific knockout of B cell lymphoma 6 suppresses progression of non-alcoholic steatohepatitis in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66539-z	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 Kasahara Daigo, Sumiyoshi Hideaki, Endo Hitoshi, Yanagawa Takayo, Nakano Yasuhiro, Matsuki Yuki, Nakao Sachie, Kamiya Akihideo, Kimura Hiroshi, Inagaki Yutaka	4. 巻 528
2. 論文標題 Visualization and isolation of zone-specific murine hepatocytes that maintain distinct cytochrome P450 oxidase expression in primary culture	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 420 ~ 425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.202	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 Endo Hitoshi, Owada Satoshi, Inagaki Yutaka, Shida Yukari, Tatemichi Masayuki	4. 巻 36
2. 論文標題 Metabolic reprogramming sustains cancer cell survival following extracellular matrix detachment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 101643 ~ 101643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.redox.2020.101643	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 Okazaki Isao, Shibata Shinsuke, Ando Wataru, Yanagawa Takayo, Yokomori Hiroaki, Sonoda Akira, Suzuki Norihiko, Yamanouchi Eigo, Okada Shinya, Kamikura Shinichi, Hachimura Kazuaki, Takaki Takashi, Otori Katsuya, Suzuki Yutaka, Okano Hideyuki, Inagaki Yutaka	4. 巻 7
2. 論文標題 Sequential Matrix Metalloproteinase-1 Expression Triggered by Infiltrating Monocytic Lineage Cells Modulates Pathophysiological Aspects of Human Nonalcoholic Steatohepatitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Metalloproteinases In Medicine	6. 最初と最後の頁 1 ~ 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/MNM.S252991	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 Matsumura Seiichi, Kurashima Yosuke, Murasaki Sayuri, Morimoto Masako, Arai Fujimi, Saito Yukari, Katayama Nana, Kim Dayoung, Inagaki Yutaka, Kudo Takahiro, Ernst Peter B., Shimizu Toshiaki, Kiyono Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Stratified layer analysis reveals intrinsic leptin stimulates cryptal mesenchymal cells for controlling mucosal inflammation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-75186-3	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 Kawano Hiroshi, Koyama Kazuya, Nishimura Haruka, Toyoda Yuko, Kagawa Kozo, Sato Seidai, Naito Nobuhito, Goto Hisatsugu, Inagaki Yutaka, Nishioka Yasuhiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Development of improved method to identify and analyze lung fibrocytes with flow cytometry in a reporter mouse strain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Immunity, Inflammation and Disease	6. 最初と最後の頁 120 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iid3.361	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 Kurashima Yosuke, Kigoshi Takaaki, Murasaki Sayuri, Arai Fujimi, Shimada Kaoru, Seki Natsumi, Kim Yun-Gi, Hase Koji, Ohno Hiroshi, Kawano Kazuya, Ashida Hiroshi, Suzuki Toshihiko, Morimoto Masako, Saito Yukari, Sasou Ai, Goda Yuki, Yuki Yoshikazu, Inagaki Yutaka, Iijima Hideki, Suda Wataru, Hattori Masahira	4. 巻 12
2. 論文標題 Pancreatic glycoprotein 2 is a first line of defense for mucosal protection in intestinal inflammation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-21277-2	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 Chikada Hiromi, Ida Kinuyo, Nishikawa Yuji, Inagaki Yutaka, Kamiya Akihide	4. 巻 10
2. 論文標題 Liver-specific knockout of B cell lymphoma 6 suppresses progression of non-alcoholic steatohepatitis in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66539-z	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 Anzai Kazuya, Tsuruya Kota, Ida Kinuyo, Kagawa Tatehiro, Inagaki Yutaka, Kamiya Akihide	4. 巻 11
2. 論文標題 Kruppel-like factor 15 induces the development of mature hepatocyte-like cells from hepatoblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-97937-6	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 Kakizaki Masatoshi, Yamamoto Yuichiro, Nakayama Shunya, Kameda Kazuaki, Nagashima Etsuko, Ito Masatoshi, Suyama Takashi, Matsuzaki Yumi, Chiba Tetsuhiro, Sumiyoshi Hideaki, Inagaki Yutaka, Kotani Ai	4. 巻 12
2. 論文標題 Human hepatocyte-derived extracellular vesicles attenuate the carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 1010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-021-04204-7	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 Matsuki Yuki, Yanagawa Takayo, Sumiyoshi Hideaki, Yasuda Jumpei, Nakao Sachie, Goto Mitsuaki, Shibata-Seki Teiko, Akaike Toshihiro, Inagaki Yutaka	4. 巻 583
2. 論文標題 Modification of exosomes with carbonate apatite and a glycan polymer improves transduction efficiency and target cell selectivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 93～99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.10.063	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 Nakano Yasuhiro, Nakao Sachie, Sueoka Minako, Kasahara Daigo, Tanno Yuri, Sumiyoshi Hideaki, Itoh Tohru, Miyajima Atsushi, Hozumi Katsuto, Inagaki Yutaka	4. 巻 5
2. 論文標題 Two distinct Notch signals, Delta-like 4/Notch1 and Jagged-1/Notch2, antagonistically regulate chemical hepatocarcinogenesis in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03013-8	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 Tanaka Toshiaki, Moriya Koji, Tsunenaga Makoto, Yanagawa Takayo, Morita Hiromi, Minowa Takashi, Tagawa Yoh-ichi, Hanagata Nobutaka, Inagaki Yutaka, Ikoma Toshiyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Visualized procollagen I 1 demonstrates the intracellular processing of propeptides	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e202101060
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.202101060	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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 柳川享世、住吉秀明、中尾祥絵、松木勇樹、紙谷聡英、近田裕美、大塚正人、三浦浩美、横森昭弘、高木孝士、稲垣 豊
2. 発表標題 造血系細胞が分泌するエクソソームを介した肝発生と傷害肝修復の制御機構
3. 学会等名 第26回肝細胞研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松木勇樹、住吉秀明、柳川享世、中野泰博、後藤光昭、赤池敏宏、稲垣 豊
2. 発表標題 効率性と安全性に優れた新規修飾型エクソソームの開発と薬物送達手段への応用
3. 学会等名 第26回肝細胞研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳川享世、住吉秀明、紙谷聡英、横森弘昭、稲垣 豊
2. 発表標題 肝実質細胞と造血系細胞とのクロストークを介した肝発生と傷害肝修復の制御機構
3. 学会等名 第55回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayo Yanagawa, Hideaki Sumiyoshi, Sachie Nakao, Hiromi Miura, Masato Otsuka, Hiromi Chikada, Akihide Kamiya, Hiroaki Yokomori, Takashi Takaki, Yutaka Inagaki
2. 発表標題 Opioid growth factor receptor-like 1; an extracellular vesicle-derived common mediator of regeneration of fibrotic liver and fetal development of hepatic progenitor cells in mice.
3. 学会等名 20th International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayo Yanagawa, Sachie Nakao, Akihide Kamiya, Hideaki Sumiyoshi, Yuki Matsui, Kota Tsuruya, Tatehiro Kagawa, Isao Okazaki, Yutaka Inagaki
2. 発表標題 Clinical significance of a novel exosomal protein, opioid growth factor receptor-like 1 in the repair from liver injury/fibrosis.
3. 学会等名 70th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳川享世、中尾祥絵、住吉秀明、松木勇樹、岡崎 勲、横森弘昭、稲垣 豊
2. 発表標題 エクソソーム内包タンパク質Opioid growth factor receptor like-1を介した肝発生と再生の制御機構
3. 学会等名 第33回肝類洞壁細胞研究会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松木勇樹、住吉秀明、柳川享世、安田純平、中野泰博、後藤光昭、赤池敏宏、稲垣 豊
2. 発表標題 効率性と安全性に優れたエクソソーム治療法の創生に向けたモニタリング用エクソソームの開発
3. 学会等名 第33回肝類洞壁細胞研究会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲垣 豊
2. 発表標題 細胞ストレスと線維化 - 臓器特異性と共通性
3. 学会等名 第20回分子予防環境医学研究会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳川享世、中尾祥絵、住吉秀明、松木勇樹、紙谷聡英、鶴谷康太、加川建弘、岡崎 勲、稲垣 豊
2. 発表標題 エクソソーム内包肝再生促進因子OGFRL1発現の臨床的意義
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳川享世、鶴谷康太、加川建弘、紙谷聡英、岡崎 勲、稲垣 豊
2. 発表標題 エクソソーム内包肝再生促進因子Opioid growth factor receptor-like 1の発現動態と臨床的意義
3. 学会等名 第56回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳川享世、中尾祥絵、住吉秀明、松木勇樹、紙谷聡英、加川建弘、鶴谷康太、横森昭弘、稲垣 豊
2. 発表標題 急性ならびに慢性肝傷害におけるエクソソーム内包因子Opioid growth factor receptor-like1の発現意義
3. 学会等名 第27回肝細胞研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松木勇樹、住吉秀明、柳川享世、安田純平、後藤光昭、赤池敏宏、稲垣 豊
2. 発表標題 エクソソーム治療法の創生に向けたモニタリング用エクソソームの開発
3. 学会等名 第27回肝細胞研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松木勇樹、柳川享世、住吉秀明、稲垣 豊
2. 発表標題 難治性肝疾患に対するエクソソーム医療の創生に向けた技術開発
3. 学会等名 第34回肝類洞壁細胞研究会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳川享世、岡崎 勲、松木勇樹、住吉秀明、稲垣 豊
2. 発表標題 エクソソーム内包肝再生因子OGFRL1発現の臨床的意義
3. 学会等名 第34回肝類洞壁細胞研究会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松木勇樹、住吉秀明、柳川享世、安田純平、後藤光昭、赤池敏宏、稲垣 豊
2. 発表標題 新たな再生医療の創生に向けたモニタリング用エクソソームの開発
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柳川享世、中尾祥絵、鶴谷康太、加川建弘、松木勇樹、住吉秀明、稲垣 豊
2. 発表標題 新規肝再生促進因子OGFRL1発現の臨床的意義
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柳川享世、稲垣 豊
2. 発表標題 造血細胞と肝実質細胞のクロストークからみた傷害・線維肝修復と肝発生の制御機
3. 学会等名 第53回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yutaka Inagaki
2. 発表標題 Treatment strategy for liver fibrosis based on deactivation of fibrogenic hepatic stellate cells.
3. 学会等名 Asian Pacific Association for the Study of the Liver Single Topic Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松木勇樹、柳川享世、住吉秀明、安田純平、中尾祥絵、後藤光昭、関 禎子、赤池敏宏、稲垣 豊
2. 発表標題 新規修飾型エクソソームの開発に基づく取り込み効率と肝細胞選択性の向上
3. 学会等名 第28回肝細胞研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松木勇樹、柳川享世、住吉秀明、安田純平、稲垣 豊
2. 発表標題 標的細胞内のサイトソル移行性と肝細胞指向性の向上を目的とした新規修飾型エクソソームの開発
3. 学会等名 第35回肝類洞壁細胞研究会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲垣 豊、松木勇樹、柳川享世
2. 発表標題 エクソソーム工学に基づく線維肝に対する再生治療戦略
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 稲垣 豊	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 124
3. 書名 別冊・医学のあゆみ 臓器線維症を科学する - 病態解明と治療法開発への展望 -	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東海大学大学院 マトリックス医学生物学センター http://matrix.med.u-tokai.ac.jp/ 東海大学大学院 医学研究科 http://www.med.u-tokai.ac.jp/daigakuin/web/matrix.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	柳川 享世 (Yanagawa Takayo) (10760291)	東海大学・医学部・助教 (32644)	
研究分担者	赤池 敏宏 (Akaike Toshihiro) (30101207)	公益財団法人国際科学振興財団・その他部局等・主席研究員 (72101)	削除：2020年10月12日
研究分担者	後藤 光昭 (Goto Mitsuaki) (80235001)	公益財団法人国際科学振興財団・その他部局等・主任研究員 (72101)	削除：2020年10月12日

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
---------	---------