

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02616

研究課題名（和文）樹状細胞由来細胞外小胞の免疫機能の最大化並びに動態制御に基づくワクチン療法開発

研究課題名（英文）Development of vaccines based on the maximization of immune function and control of pharmacokinetics of extracellular vesicles derived from dendritic cells

研究代表者

高倉 喜信（Takakura, Yoshinobu）

京都大学・薬学研究科・特任教授

研究者番号：30171432

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000 円

研究成果の概要（和文）：免疫細胞である樹状細胞から産生される膜小胞である、細胞外小胞もまた産生細胞に由来する免疫分子を搭載していることから、これに抗原タンパク質を搭載することで有用なワクチンとなりえる。一方で、そのためにはこれを体内に投与したと、効率よくかつ持続的に、抗原提示の場であるリンパ節へ送達する必要があることから、本研究ではこれを検討した。その結果、細胞外小胞の種類を変えてもリンパ節移行性は変化しなかった。一方で、持続的な細胞外小胞の放出を可能とする徐放製剤の開発に成功した。この発見は、効果的なワクチン開発のための有用な基礎的知見である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

社会問題となったコロナウイルス感染症の対策において主たる解決策となったことから明らかなように、効果的なワクチン療法の開発が望まれている。樹状細胞由来の細胞外小胞を利用したワクチン療法は、有用なワクチンとなりえることが期待されるが、その効果は一過性であった。本研究で開発した徐放化技術によって、その他内動態の制御と、単回投与によってのワクチン効果の発揮とその持続化に成功した。従って、本研究の成果は樹状細胞由来の細胞外小胞のワクチン開発を大いに促進するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Extracellular vesicles, which are membrane vesicles produced by dendritic cells, are loaded with immune molecules derived from the producing cells, and thus can be useful as vaccines by loading antigen proteins. However, it is necessary to efficiently and continuously deliver the antigen to the lymph nodes, the site of antigen presentation. In this study, these points were investigated. The results showed that changing the type of extracellular vesicles did not alter lymph node migration. On the other hand, sustained release of extracellular vesicles was achieved by developing sustained-release formulation. This finding is a useful fundamental finding for effective vaccine development.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：細胞外小胞 エクソソーム 樹状細胞

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

抗原特異的免疫応答の誘導を可能とするワクチン療法は、がん、感染症等の種々の疾患に対して、治療効果が高く副作用が少ない有用な治療法として期待されている。抗原特異的免疫の誘導は主として抗原提示細胞 (Antigen presenting cell; APC) による T 細胞への抗原提示により行われる。そのために、効率的かつ持続的な抗原の抗原提示細胞への送達と、抗原提示細胞の活性化を可能とする方法の開発が行われてきた。

EV はほぼすべての細胞から分泌される膜小胞である。EV は産生細胞に由来した物質を含んでおり、EV を取り込んだ細胞へと内包物質を輸送する細胞間物質輸送担体として機能している。EV を介した細胞間物質輸送は様々な生体内イベントに関係するが、特に EV の関与が注目される現象の一つとして免疫応答が挙げられる。

DC は主たる抗原提示細胞の一つであり、体内の異物を貪食して断片化した後、主要組織適合抗原複合体 (MHC) 上に提示した抗原エピトープを共刺激分子とともに T 細胞に提示する獲得免疫の主役である。DC が分泌する EV (DC-derived EV; DC-EV) は、MHC をはじめとした種々の免疫関連分子を含有することから抗原を搭載することで優れたワクチン療法になることが期待され検討が行われてきたが、これまで十分な効果が得られていないのが現状である。研究代表者らは、この原因が DC-EV が本来有する免疫機能を十分に引き出すための取り組みが不足していたためと考えた。そこで、DC-EV の高機能化を目的に DC にただ抗原を加えるだけではなくさらに免疫活性化物質であるリポポリ多糖 (LPS) ならびにインターフェロン (IFN) を添加した DC より DC-EV を調製した。その結果、回収した DC-EV は抗原を内部に含有するとともに抗原エピトープを提示した MHC を表面に有しており、さらには非常に強力な自然免疫活性化能 (アジュバント能) を有することを見出した。さらに、この DC-EV は、DC に取り込まれ内包された抗原がプロセッシングを受け通常の経路で T 細胞へ抗原提示 (通常の抗原提示) されるのみならず、DC を経由することなく EV 単独で自身の MHC 分子に提示された抗原エピトープを T 細胞へと直接提示 (直接的抗原提示) する能力を併せ持ち、効率よく抗原特異的な細胞性免疫と液性免疫を誘導する。担がんマウスの評価系においても腫瘍の完全退縮効果を示すなど、非常に強力かつ有望なワクチンであることを報告した。

以上のように研究代表者らは既に DC-EV が有望なワクチンになりうることを見出した。一方、投与した DC-EV の体内動態の制御、すなわちリンパ節への移行性の改善や、投与部位における滞留性の向上による免疫誘導の効率化と長期化も、ワクチン効果の増強に必要な課題である。通常のワクチンにおいては、投与した抗原およびアジュバントを特異的かつ持続的に APC に送達できる動態特性が望ましい。一方、DC-EV を利用したワクチンにおいても同様に APC への効率的な送達は必要ではあるものの、DC-EV は T 細胞への直接的な抗原提示能も併せ持つことから、リンパ節に豊富に存在する T 細胞への送達についても考慮する必要があり、従来のワクチンとは異なる動態特性が必要と予想される。しかしながら、投与したワクチンの動態制御の重要性はこれまでのワクチン開発においては一切考慮されてこなかった。

### 2. 研究の目的

以上のような背景に基づき、本研究では、DC-EV を用いた効率的なワクチン療法の開発のために、EV のリンパ節移行性の改善と、投与部位における投与部位における滞留性の改善を目指すこととした。

### 3. 研究の方法

#### (1) EV のリンパ節移行性の改善

##### 実験動物

5 週齢、雄性、ICR マウスは清水実験材料から購入した。動物実験には京都大学動物実験委員会から承認を得て行った。

##### 細胞培養

マウスメラノーマ細胞株 B16BL6 は、理研バイオリソースセンター社から購入した。細胞は、10% FBS (MP Biomedicals 社)、0.15% 炭酸水素ナトリウム、0.2% グルコース、100 units/ml ペニシリン、100 mg/ml ストレプトマイシンを添加した DMEM 培地で、37 °C、5% CO<sub>2</sub>、加湿条件下で培養した。

##### B16BL6 細胞への遺伝子導入

pcDNA3.1 ベクターに Gag-gLuc をコードする cDNA を挿入した pCMV-Gag-gLuc を用意し、DNA 50 µg を 0.323 g/L に調製した PEI Max (Polysciences 社) 400 µL と混合した。30 分間静置することにより複合体を形成させた後、sEVs 産生細胞として選択した B16BL6 細胞へ複合体溶液を添加し、37 °C、5% CO<sub>2</sub>、加湿条件下で培養した。

##### Gag-gLuc 標識した sEVs の回収

先述の培養 1 時間後に Opti-MEM (Thermo Fisher Scientific 社) 40 mL/15 cm dish で培地交換を行い、さらに 24 時間培養した。培養上清に対して、300 × g 10 分、2,000 × g 20 分、10,000 × g 30 分の順で遠心分離を行って細胞断片を除去し、その後孔径 0.2 µm のシリンジフィルターを用いて濾過操作を行うことで前処理培地を調製した。sEVs 回収のためには、前処理培地に

対して 100,000 × g 1 時間の超遠心操作を行うことで sEVs を沈殿させた。PBS に懸濁し再度超遠心操作を 2 回行うことで培地由来のタンパク質を洗浄除去した。沈殿した sEVs は PBS により懸濁した。回収した sEVs のタンパク質量は、Quick Start Bradford Protein Assay (Bio-Rad 社)を用いて測定した。

#### PKH67 標識 sEVs の調製

PKH67 Green Fluorescent Cell Linker Midi Kit for General Cell Membrane Labeling (Merck 社) を用いた。超遠心 2 回目の沈殿を Diluent C に懸濁し PKH67 を加えて 5 分インキュベートし、5% BSA を含む PBS により反応を停止させた。その後 2 時間の超遠心によって未反応の試薬等を除去した。

#### 陰イオン交換クロマトグラフィー法による PS(-) sEVs の回収

Macro-prep®HighQ Media (Bio-Rad 社)を充填したカラムを作製し、PS(-) sEVs の回収に用いた。約 200 µg protein の Gag-gLuc 標識 sEVs を 1% BSA を含む PBS 10 mL 中に懸濁し、カラムにロードした。通過画分(Flow-through fraction) 10 mL を回収し、これを 100 K ultrafiltration (Amicon Ultra, Merck Millipore 社)を用いて濃縮した後で PS(-) sEVs として実験に使用した。

#### Tim4 固定化磁気ビーズを用いた PS-rich sEVs のアフィニティーキャプチャー

Bulk sEVs および PS(-) sEVs 各サンプル中の PS-rich sEVs および PS-less sEVs の割合を評価するため、各サンプルを Tim4 固定化磁気ビーズ(富士フィルム和光純薬社)と 1 時間インキュベーションし、既報の方法で上清および沈殿を回収し、それぞれの gLuc 活性を測定した[11]。

#### 透過型顕微鏡による sEVs の形態的観察

sEVs を 2% パラホルムアルデヒド(PFA)中で固定した後、親水化処理した透過型電子顕微鏡(TEM)観察用グリッドに添加し、20 分間静置した。PBS で洗浄後、1% グルタルアルデヒドで再度固定し、精製水による洗浄後 1% 酢酸ウランを添加、3 分間インキュベートすることで染色を行った。その後、sEVs 粒子を TEM (Hitachi H-7650, 日立ハイテクノロジー社)により観察した。

#### sEVs のリンパ節移および血中移行性評価

ICR マウスに 1 匹当たり 5 µg protein の Gag-gLuc 標識 sEVs をマウスの背中左側に皮内投与した。経時的に尾静脈より採血、および頸椎脱臼で安楽死後に左側の鼠径リンパ節と投与部位である皮膚を回収した。回収した血清は氷上で 2 時間静置したのち、4 × 8000 × g で 20 分間遠心し、上清中の gLuc 活性をピッカジーンデュアル(東洋ビーネット社)により測定した。回収した鼠径リンパ節および投与部位は 2% BSA を含む lysis buffer (0.1 M Tris, 0.05% Triton-X-100)をそれぞれ 0.5 mL、1 mL 加えてホモジネートした。ホモジネート液は血清と同条件で遠心し、上清中の gLuc 活性を測定した。

#### 蛍光標識した sEVs の組織分布の観察

Gag-gLuc 標識 sEVs を ICR マウスに 1 匹当たり 5 µg protein で皮内投与した。投与 24 時間後にマウスを安楽死し、鼠径リンパ節および投与部位を回収した。回収した組織は 4%パラホルムアルデヒド(ナカライテスク社)で固定した後、スクロースを含む PBS で置換を行った。その後、Tissue-Tek OCT compound (サクラファインテックジャパン社)で包埋し、-80 °C で凍結した。その後、凍結組織を freezing microtome (Leica CM3050 S, Leica Biosystems 社)で 8 µm に薄切し、fluorescence microscope (BioZero BZ-X710)で観察した。投与部位の組織切片は免疫蛍光染色のために、4% パラホルムアルデヒド(ナカライテスク社)で固定した。PBS で洗浄後、20% FBS を含む PBS で 37 °C、1 時間インキュベーションした。PBS で洗浄後、マクロファージを染色するため、抗 F4/80 抗体(1:100 希釈, Biolegend 社)を切片に添加し、4 °C、一晩インキュベーションした。その後、Alexa Fluor 594 labeled goat anti-rat IgG (1:500 希釈, Abcam 社)で染色し、fluorescence microscope (BioZero BZ-X710)で観察した。

## (2) EV の滞留性の改善

### 細胞培養

マウスメラノーマ細胞株 B16BL6 は上記の方法で入手・培養した。アヒト胚性腎細胞 293(HEK293) は、10 % FBS を含む DMEM で培養した。樹状細胞株 DC2.4 は、0.5 mM モノチオグリセロールと 0.5 mM 非必須アミノ酸を添加した 10% FBS 含有 RPMI 1640 (日水製薬株式会社)で培養した。

### GeIMA の合成

ブタ皮膚から単離したゼラチン(A型、新田ゼラチン株式会社、大阪、日本) 25g をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に 50 °C で溶解し、激しく攪拌した。ゼラチン溶解後、メタクリル酸無水物(Sigma-Aldrich, St. 4N の NaOH を 4 時間かけて滴下し、混合物の pH を 7.0-7.4 に維持した。反応後、溶液を脱イオン水で 3 日間透析し、毎日水を交換した。この溶液を 0.45 µm のフィルターでろ過し、非変性ゼラチンを除去した。メタクリル酸基の修飾率は、アミン基の蛍光測定により評価した。GeIMA は凍結乾燥して保存した。

### GeIMA ミクロスフェアの調製と特性評価

PEG (MW: 6,000) (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japan) 30 % (w/w)、2-Hydroxy-4'-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenone (irgacure2959) (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) 0.5mg/mL および GeIMA を 1mL の PBS 中で 1,000rpm で 10 分間攪拌した。混合物に紫外線(365 nm)を 5 分間照射して架橋させた。GeIMA ミクロスフェアの直径測定は BZ-X710 で行い、表面構造は走査型電子顕微鏡(SEM)(JSM-7900F; 日本電子株式会社、東京、日本)で観察した。安定性を評価するために、GeIMA ミクロスフェアを PBS 中で 37 °C で

ンキュベートした。一定時間ごとに上清を回収し、BCA アッセイでタンパク質濃度を評価した。

#### sEV の分離

GAG および gLuc の融合タンパク質で標識した sEV は、以下の手順で回収した。B16BL6 細胞を pCMV-GAG-gLuc と PEI MAX (Polysciences, Inc, Warrington, PA, USA) でトランスフェクトし、24 時間培養後、培養上清を連続遠心 (300 × g, 10 分, 2,000 × g, 20 分, 10,000 × g, 30 分)、0.2 μm ろ過、超遠心 (100,000 × g, 60 分, 3 回) して精製した。CpG-OVA の sEV は、ストレプトアビジン (SAV) とラクトドヘリン (LA; sEV 膜に局在するタンパク質) (SAV-LA) および GAG-OVA 修飾 sEV を結合させて得た。

#### sEV の搭載効率と放出速度

GAG-gLuc sEV を GeIMA ミクロスフェアに担持させるために、10 μg の GAG-gLuc sEV を GeIMA とあらかじめ混合した。この混合物を前述のように PEG と Irgacure2959 で攪拌した。UV 照射と洗浄後、GeIMA ミクロスフェアを PBS 中で 37 °C でインキュベートした。一定時間ごとに上清を回収し、上清中の gLuc 活性を測定した。

#### 透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察

sEVs 懸濁液に等量の 4%パラホルムアルデヒド (ナカライテスク) を加えた。次に、この混合物を Carbon/Formvar film coated transmission electron microscope (TEM) -grid (Alliance Biosystems, Osaka, Japan) に添加した。PBS 洗浄後、1%酢酸ウラニルで 5 分間インキュベートした。試料を TEM で観察した。

#### in vitro サイトカイン放出アッセイ

トランスウェルを使用する場合、DC2.4 細胞を下部のチャンバー底部に播種し、24 時間後、CpG-OVA sEVs (最終濃度; 1 μg sEV protein/mL) を担持した GeIMA ミクロスフェアをトランスウェルインサートのフィルターメンブレン上部に添加した。通常の細胞培養ウェルを用いる場合、細胞を  $5.0 \times 10^5$  個/mL の密度で 24 ウェルプレートに播種し、24 時間培養した。その後、sEV を最終濃度 1 μg sEV protein/mL でウェルに直接添加した。培養上清は指示された時点で回収した。培養液中の TNF- $\alpha$  量は、酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) により測定した。

## 4. 研究成果

### (1) EV のリンパ節移行性の改善

EV のリンパ節移行性の改善に際しては、投与部位において、マクロファージに取り込まれにくい、PS(-) の EV が有用ではないかと仮説を立てて検証した。B16BL6 細胞から超遠心法で Gag-gLuc 標識 Bulk sEVs を回収し、さらに Bulk sEVs から陰イオン交換クロマトグラフィー法によって Gag-gLuc 標識 PS(-) sEVs を回収し、それぞれの sEVs を透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察した。その結果、Bulk sEVs および PS(-) sEVs は粒子径 100 nm 程度の脂質二重膜構造を有することが確認された。さらに、陰イオン交換クロマトグラフィー法による PS(-) sEVs の回収を確認するため、Tim4 固定化磁気ビーズを用いた PS-rich sEVs のアフィニティーキャプチャーを行った。その結果 Bulk sEVs では 95%以上の gLuc 活性が PS-rich sEVs 画分として回収された一方、PS(-) sEVs では 87%以上の gLuc 活性が PS-less sEVs 画分として回収された。以上の結果より、陰イオン交換クロマトグラフィー法による PS(-) sEVs の回収に成功したことが示された。

皮内投与とされた Bulk sEVs および PS(-) sEVs の投与部位からの消失および所属リンパ節への移行性を経時的に評価するため、Gag-gLuc 標識した Bulk sEVs および PS(-) sEVs をマウスに皮内投与した 5 分、1 時間、4 時間、24 時間後に、回収した投与部位および鼠径リンパ節のホモジネート液、血清の gLuc 活性を測定した。その結果、PS(-) sEVs は Bulk sEVs と比較して投与部位からの消失が速やかである傾向が確認された。実際、1 時間後には活性が Bulk sEVs は 31.8% ID/tissue、PS(-) sEVs は 26.5% ID/tissue 程度に低下し、24 時間後にはそれぞれ 3.3% ID/tissue、1.6% ID/tissue に低下した。また、リンパ節において、PS(-) sEVs は Bulk sEVs と比較して低い移行性を示す傾向が見られた。Bulk sEVs および PS(-) sEVs はともに投与 5 分後に最も活性が高く、それぞれ 0.26% ID/tissue、0.13% ID/tissue であった。血清中の gLuc 活性は Bulk sEVs は投与 1 時間後に最も高く、0.59% ID/mL であった一方、PS(-) sEVs は投与 4 時間後に最も高く、0.61% ID/mL であり、検出された活性は非常に低いものの動態に違いが見られた。

凍結組織切片を作製し、PKH67 標識 Bulk sEVs および PS(-) sEVs の投与部位である皮膚および鼠径リンパ節における局在を観察した。この結果、PKH67 標識 sEVs に由来する緑色蛍光は投与部位である皮膚では Bulk sEVs と PS(-) sEVs のどちらの投与群においても観察された。一方、鼠径リンパ節において Bulk sEVs、PS(-) sEVs どちらにおいても緑色蛍光は観察されなかった。次に、投与部位における Bulk sEVs および PS(-) sEVs のマクロファージによる取り込みに違いがあるかどうかを調べるために、皮膚組織切片の免疫蛍光染色を行った。マクロファージは抗 F4/80 抗体で染色した。その結果、Bulk sEVs および PS(-) sEVs 由来の緑色蛍光はどちらもマクロファージを示す赤色蛍光との共局在していた。

以上、血中投与時にはマクロファージに取り込まれにくかった PS(-) sEV は、皮内投与時には、おそらくマクロファージへの接触時間が長いために、取り込まれることが明らかとなった。この結果から、リンパ節移行性の改善のためには別の方策が必要であることが明らかとなった。

### (2) EV の滞留性の改善

ゼラチンにメタクリル酸無水物を加えて GeIMA を合成した。蛍光アッセイの結果、アミン基へ

の修飾率は 88.4%であった。分散相の濃度はマイクロスフェアのサイズに影響すると報告されている。そこで、様々なサイズの GeIMA ミクロスフェアを得るために、1, 2, 3, 4 %(w/w)の GeIMA を連続相と混合した。GeIMA ミクロスフェアはすべての条件で発泡し、その直径はそれぞれ  $12.1 \pm 7.6 \mu\text{m}$ 、 $12.4 \pm 6.0 \mu\text{m}$ 、 $16.3 \pm 9.0 \mu\text{m}$ 、 $26.9 \pm 14.9 \mu\text{m}$ であった。これらの結果から、GeIMA ミクロスフェアは、GeIMA 濃度が高くなるにつれてそのサイズが大きくなる傾向があることが示された。GeIMA ミクロスフェアの表面構造を SEM で観察した。SEM 像から、1 %の GeIMA ミクロスフェアの表面のみが粗いことが明らかになった。GeIMA ミクロスフェアの安定性を評価するために、GeIMA ミクロスフェアを PBS 中で 37 °C でインキュベートし、上清のタンパク質濃度を測定した。BCA アッセイにより、GeIMA ミクロスフェアは、GeIMA 濃度が低下するにつれて分解しやすくなることが示された。

sEV が GeIMA ミクロスフェアに担持されるかどうかを明らかにするため、PKH67 標識 sEV と混合した GeIMA ミクロスフェアを調製した。顕微鏡観察では、PKH67 の緑色蛍光が GeIMA ミクロスフェアと共同存在していた。この結果から、sEV は GeIMA ミクロスフェアの中あるいは上に担持できることが示唆された。GeIMA ミクロスフェアからの sEV の封入効率と放出速度を評価するため、GAG-gLuc sEV を封入した GeIMA ミクロスフェアを調製し、上清の gLuc 活性を測定した。その結果、1 %の条件で調製したものは封入効率が低く、他の条件ではカプセル化効率に明らかな差は見られなかった。一方、sEV 放出率は GeIMA 濃度と負の相関を示した。ミクロスフェアからの放出後も sEV の構造が維持されているかどうかを調べるため、放出された sEV を集めて TEM で観察した。sEV の構造的特徴の一つである二重膜を持つナノ粒子が観察された。

以前、CpG-OVA sEV が DC2.4 細胞を活性化し、細胞からの TNF- $\alpha$  放出を誘導することを明らかにした。DC2.4 の活性化が、GeIMA ミクロスフェアからの sEV の持続的放出によって調節されるかどうかを調べるために、GeIMA ミクロスフェアを、DC2.4 が播種されたウェルの下に位置するトランスウェルのインサート上に添加した。CpG-OVA 含有サンプルで処理した DC2.4 から放出された TNF- $\alpha$  の量は、時間の経過とともに増加した。さらに、CpG-OVA sEV を添加した GeIMA ミクロスフェアを添加した場合、DC2.4 細胞からの TNF- $\alpha$  放出量は、CpG-OVA sEV を添加した細胞からの放出量よりも少なかった。通常の細胞培養ウェルを用いて GeIMA ミクロスフェアを DC2.4 に直接添加した場合、CpG-OVA sEVs を添加した GeIMA ミクロスフェアは、CpG-OVA sEVs を添加した細胞よりも DC2.4 細胞からの TNF- $\alpha$  放出が多かった。

以上、sEV を徐放化可能なミクロスフェアの開発に成功した。このミクロスフェアを用いることで、皮内投与後における sEV の滞留性の向上と、免疫応答の長期化が可能となると期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsumoto Akihiro, Takahashi Yuki, Ogata Kosuke, Kitamura Shimpei, Nakagawa Naoki, Yamamoto Aki, Ishihama Yasushi, Takakura Yoshinobu	4. 巻 24
2. 論文標題 Phosphatidylserine-deficient small extracellular vesicle is a major somatic cell-derived sEV subpopulation in blood	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102839 ~ 102839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102839	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 Wen, Ota Maki, Tabushi Mayu, Takahashi Yuki, Takakura Yoshinobu	4. 巻 345
2. 論文標題 Development of allergic rhinitis immunotherapy using antigen-loaded small extracellular vesicles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 433 ~ 442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2022.03.016	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安江 和佳奈、塩野 光希、高橋 有己、高倉 喜信
2. 発表標題 CpG DNA修飾した細胞外小胞を徐放可能なゼラチン微粒子の開発
3. 学会等名 日本DDS学会第38回学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋 有己、塩野 光希、高倉 喜信
2. 発表標題 持続的な細胞外小胞放出を可能とするメタクリル酸修飾ゼラチン微粒子の開発
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	高橋 有己  (Takahashi Yuki)  (00547870)	京都大学・薬学研究科・准教授    (14301)	

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