



Title	ナノカプセルを用いた骨格筋ミトコンドリアを標的とした治療法の開発に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	片山, 貴史
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13435号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/74338
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2449
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Takashi_Katayama_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 片 山 貴 史

主査 教授 岩 永 敏 彦
審査担当者 副査 教授 廣 瀬 哲 郎
副査 教授 岩 崎 倫 政
副査 教授 畠 山 鎮 次

学 位 論 文 題 名

ナノカプセルを用いた骨格筋ミトコンドリアを標的とした治療法の開発に関する研究
(Studies on a mitochondrial delivery system
using liposome-based nanocarriers that target myoblast cells)

申請者は、骨格筋ミトコンドリアへ薬物や核酸等を直接効率的に送達することにより、心不全患者の骨格筋ミトコンドリア機能ひいては運動能を改善させることを最終目標とし、各実験を行った。骨格筋細胞ミトコンドリア標的型リポソームの開発にあたり最適な脂質組成や修飾を探索的に研究し、骨格筋芽細胞ミトコンドリア内へリポソームを用いて効率が高い核酸送達を行った。また、ミトコンドリア機能を向上させる薬物を細胞内取込能が高いリポソームへ封入し細胞へ投与することで薬物によるミトコンドリアへの効果が増強するという仮説を立て検証した。

審査にあたり、まず副査の廣瀬教授から、実験3で各種修飾により細胞膜取込能が低下した理由および細胞内取込能を改善させる方法について質問があり、申請者は、エンドソームによる細胞内取込が修飾素子により物理的に障害された可能性について述べた上で、リポソームの多重化によって細胞膜およびミトコンドリア外膜それぞれの至適条件を検討したいと回答した。廣瀬教授から、実験3のプラスミドDNAで用いられているウイルス由来のプロモーターが核ではなくミトコンドリア内で認識され転写され得るのか質問があり、申請者は、同プロモーターがミトコンドリア遺伝子発現を向上させたという共同研究先での結果を根拠としているが、機序については今後検証したいと回答した。副査の畠山教授から、分化した細胞や他種の細胞での検証について質問があり、申請者は、実験条件の都合により未分化の細胞を対象としたこと、また心筋培養細胞においても細胞内取込能の傾向が類似した結果を得たことを回答した。畠山教授から、実験2で複合体I低下を治療する点と申請者の研究室で複合体II低下を主張している点との整合性について質問があり、申請者は、電子伝達系を構成する各要素のうち実験2の治療対象は一部分に留まると回答した。畠山教授から、ミトコンドリア内膜を通過しマトリックスまで到達するための効率化について質問があり、申請者は、ミトコンドリア内の動態は画像評価が難しく間接的な検証に留まると回答した。畠山教授から、エンドソームがライソソームによって分解される前にリポソームがエンドソームを脱出する必要がある点について質問があり、申請者は、ライソソームによる分解の影響を含む細胞内動態について今後検証したいと回答した。副

査の岩崎教授から、骨格筋への投与経路について質問があり、申請者は、静脈内注射における血中滞留性や臓器特異性などの課題点について回答した。岩崎教授から、細胞や生体において治療効果として評価する具体的な機能について質問があり、申請者は、時間的因果関係が明らかではないものの、骨格筋ミトコンドリア複合体 I 低下を改善することでミトコンドリア電子伝達系が改善し、組織である筋機能が改善する可能性が期待されると回答した。岩崎教授から、実験 2 において機能改善を達成するために薬物送達の効率性向上で解決できるか質問があり、申請者は、より特異的にミトコンドリアへ作用する薬物の選定について回答した。主査の岩永教授から、薬物送達時の臓器特異性について質問があり、申請者は、血中滞留性を向上させる工夫、臓器選択性を上げるための免疫学的な工夫について回答した。岩永教授から、実験 3 においてプラスミド DNA の濃度設定の妥当性について質問があり、申請者は、プラスミド DNA 投与の一般的な濃度を上限に設定したが、より低濃度も設定すべきであったと回答した。岩永教授から、蛍光修飾したリポソームがミトコンドリアへ移行するとミトコンドリアの形状に沿った蛍光を示すのではないかと質問があり、申請者は、リポソーム表面に介在する蛍光標識が膜融合によってミトコンドリア外膜全体へ分布すると考えられるが、これらは分散により蛍光として検出できず、リポソームの形状を保持し蛍光標識の限局が維持された箇所のみを蛍光検出しているという考え方もできると回答した。これを踏まえ廣瀬教授から、蛍光標識をリポソームの表面ではなく内部に修飾するべきではと質問があり、申請者は、基礎論文の追加実験で予定していると回答した。岩崎教授から、標的とする骨格筋に多く発現している脂質を用いることでリポソームの臓器選択性が向上するのではと質問があり、申請者は、標的臓器の特徴をさらに調べて検討したいと回答した。

この論文は、ミトコンドリア異常が臨床的に問題となっている骨格筋の細胞を研究対象とし、送達物質の制限が少ないリポソームによる骨格筋細胞ミトコンドリアへの物質送達を実現した点において高く評価され、今後の生体における骨格筋ミトコンドリア機能改善への応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。