



Title	ドキシソルピシン心筋症に対するミトコンドリアドラッグデリバリーシステムを用いた心筋前駆細胞移植の有効性検証 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	阿部, 二郎
Description	配架番号 : 2274
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12533号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65983
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Jiro_Abe_review.pdf, 審査の要旨



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 阿 部 二 郎

主査 教授 畠 山 鎮 次
審査担当者 副査 教授 松 居 喜 郎
副査 教授 久 下 裕 司
副査 教授 近 藤 亨

学 位 論 文 題 名

ドキソルビシン心筋症に対するミトコンドリアドラッグデリバリーシステムを用いた
心筋前駆細胞移植の有効性検証
(Validation of cardiac progenitor cell therapy using mitochondrial drug delivery
system for doxorubicin-induced cardiomyopathy)

本論文は、ミトコンドリアドラッグデリバリーシステム（DDS）を用いた心筋前駆細胞移植によるドキソルビシン心筋症に対する有効性とその機序について検討した研究である。ドキソルビシン心筋症は有効な治療法のない代表的な薬剤性心筋症であり、病理学的にミトコンドリア傷害を認め、近年ではミトコンドリア関連 DNA damage response (DDR) やミトコンドリア膜傷害を起因としていることがわかってきている。まず、ゲンタマイシンをリポソーム型ミトコンドリア DDS である MITO-Porter system を用いて調製し、ゲンタマイシンのミトコンドリア毒性を介した殺細胞効果を検証した。効果の検証を行ったところ、ゲンタマイシンが DDS 化によりミトコンドリアを標的とする抗癌剤になり得ることが示唆された。次に、レスベラトロールを含む MITO-Porter system を用いて、心筋前駆細胞移植細胞を作製し、それを MITO cell と命名した。病態モデルとしてドキソルビシン心筋症モデルを構築し、MITO cell が従来の心筋前駆細胞移植療法と比較した。MITO cell を移植された心筋組織において、酸化ストレスレベルや心筋細胞死が軽減していることや、心筋組織中のミトコンドリアの機能維持亢進が確認された。

審査にあたり、副査の近藤教授より、リポソームがミトコンドリア内に送達されるまでの分子機序について、HVJ リポソーム試薬と比較した MITO-Porter system の薬剤安定性について、MITO-Porter system のリガンド均一性や膜構造についての質問があった。それに対して申請者は、マクロピノサイトーシス経路で細胞内に取り込まれた MITO-Porter 粒子はそれぞれの粒子が多重膜構造を有するため複数回の膜融合が可能であるが、光学顕微鏡レベルの検討に留まっており、分子レベル解析は今後の検討課題であると回答した。また、溶液中で1ヶ月間の安定性を確認しており、製剤化に向けて更なる安定性保持のため、凍結乾燥法の検討を行う予定であること、本システムの製剤化のためには薬剤粒子の均一性や構造解析を詳細にかつ経時的に行う必要があると回答した。副査の久下教授より、レ

スベラトロールを DDS 化した経緯について、細胞移植法の考案の経緯について、製剤の品質保証についての質問があり、また MITO-Porter system の細胞内動態における膜相互作用についての分子レベルでの解析が今後望まれるとのコメントがあった。それに対して申請者は、網羅的にミトコンドリア作動薬とされる多くの低分子化合物を検討し、DDS 化が可能な分子を選択したこと、リポソーム製剤として品質の安定化を工夫する検討は今後の重要な課題であるがゲンタマイシンでは既に凍結乾燥体での安定性は証明できていると回答した。副査の松居教授より、細胞移植療法の臨床的有効性について、細胞生着とパラクライン効果について、本実験でのヒーリングエフェクトについて、ヒト細胞移植療法における加齢の影響についての質問があった。それに対して申請者は、移植細胞の長期生着についてはヒトでは確認されていないが、ヒト虚血心を対象とした大規模臨床試験では臨床的有用性が証明されていること、ヒトでは細胞移植療法は液性因子によるパラクライン効果が主体であることは事実であること、移植効果については加齢の影響は避けられないと思われるが、今後大型動物での検討が必要であると回答した。主査の畠山教授より、PCR 実験でのコントロールについて、ドキソルビシンのトポイソメラーゼ阻害の作用機序について、ドキソルビシンのミトコンドリア傷害と本システムの標的とする効果について、DDS による遺伝子改変について質問があり、さらにミトコンドリア独自の転写・翻訳系を考慮した遺伝子導入設計の必要性についてコメントがあった。それに対して申請者は、動物種が違いためプライマー設計が異なったこと、トポイソメラーゼを介した DDR を発症すること、DDR を介したミトコンドリア保護の限界、DDS を用いた遺伝子改変の今後の検討の必要性を回答した。いずれの質問に対しても、自身の実験結果や知見、関連論文などを引用して、それぞれ適切に回答した。

この論文は、現在有効な治療法のないドキソルビシン心筋症に対するミトコンドリア DDS を用いた心筋前駆細胞移植の有効性を世界で初めて示し、その効果や機序について検証したものである。作製された MITO cell は既に知財申請しており、今後このようなミトコンドリア DDS 技術を用いた新たな細胞移植療法が臨床の現場に応用されていくことを期待する。

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。