HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	心筋細胞のミトコンドリアを標的としたリポソームによる薬剤送達治療に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	辻岡, 孝郎
Description	配架番号：2704
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14964号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85836
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TSUJIOKA_Takao_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　　辻岡　孝郎

主査　　教授　安斉　俊久
審査担当者　副査　　教授　大場　雄介
副査　　教授　森本　裕二

学 位 論 文 題 名

心筋細胞のミトコンドリアを標的としたリポソームによる薬剤送達治療に関する研究
(Studies on drug-encapsulating liposomal delivery therapy targeting myocardial mitochondria)

申請者は,北海道大学大学院薬学研究院薬剤分子設計学研究室のYamadaらが開発したドラッグ・デリバリー・システムであるMultifunctional envelope-type nano device for pancreatic β cells（β-MEND）というリポソームを利用し，抗酸化作用や心保護効果が報告されているレスベラトロール（Resveratrol：RES）を封入して，心筋細胞モデルのH9c2細胞内のミトコンドリアへ送達することにより，ミトコンドリア呼吸能を賦活したことを示した。

審査にあたり，まず，副査の森本裕二教授から，申請者の専攻である小児循環器の分野の中心である先天性心疾患の診療に,本研究内容をどう応用していくか,について質問があり，申請者は，先天疾患の発症予防にはつながらないが,その臨床経過で現れる心収縮不全や,先天疾患ではないが小児期発症の心筋症などに対して,現存の心不全治療に追加して更なる治療効果が得られることを期待している,と回答した。次に,RESを直接投与ではなく,β-MENDに封入した理由について質問があり，申請者は，RESが疎水性で生体内での消化管からの吸収やバイオアベイラビリティが不良なため，それを克服する手段としてリポソームを利用する価値がある，と回答した。続けて，臨床応用につなげる場合の投与方法について質問され，申請者は，現状では，静注による全身投与では心臓への集積が不十分であり，前臨床研究では心臓への直接注入などが行われている報告があるが，臨床応用するにあたっては全身麻酔・開胸下での直接注入や経カテーテル的冠動脈内注入はあまり実用的ではないため，臨床試験を実現するためにはこれらを解決しなければならない，と回答した。

次に，副査の大場雄介教授から，リポソームが細胞内に取込まれミトコンドリアまで到

達するメカニズムについて質問され，申請者は，マクロピノサイトーシスによる細胞内への取込みとその後エンドソーム脱出を経て，負の電荷を有するミトコンドリアの外膜や内膜と正に帯電したリポソームが膜融合することで治療分子がミトコンドリア内に到達する，と回答した。それについてさらに，ミトコンドリア以外の細胞内小器官には到達しないのかと質問され，申請者は，それについては今後検証しておくべき課題の一つである，と回答した．またさらに，Seahorse XF Analyzer でのミトコンドリア呼吸能の評価について，未処理コントロール群，リポソームに封入しない RES 単独治療群，RES を封入したβ-MEND 治療群の 3 群間で比較しているが，RES も何も封入していない空のβ-MEND での治療群や，別の独自開発されたリポソームの MITO-Porter での治療群などでも検証しなかったのか，と質問され，申請者は，こちらについても今後検証しなければならない課題の 1 つであると，と回答した。

最後に，主査の安斉俊久教授から，正常の心筋細胞モデルでの評価しか行っていないが，何かしらの病態モデルを作製しての治療効果を検証しなかったのか，と質問され，申請者は，それも試みようとしたが，信頼性のある実験データがなかなか得られなかったほか，研究期間がコロナ禍と重なってしまい，研究室の閉鎖や活動制限，物品の製造流通が滞ったこともあり，残念ながら今回までの成果にとどまった，と回答した。

上記のように，検証すべき余地は残されたものの，本論文は，心筋細胞のミトコンドリアを標的とした独自のリポソームを利用して，内部に封入した RES をミトコンドリアまで送達することでその呼吸能が賦活されることを Seahorse XF Analyzer シリーズで検証した，という初めての報告である点は評価され，今後，心筋を治療しうる新規のリポソーム製剤の候補となり得ることが期待される。

審査員一同は，これらの成果に一定の評価を与え，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。