MITO-Porter, ミトコンドリア分子送達のための ナノバイオテクノロジー

北海道大学大学院薬学研究院 薬剤分子設計学研究室

MITO-Porter, Nanobiotechnology for mitochondrial delivery

Yuma Yamada

Laboratory for Molecular Design of Pharmaceuticals, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Hokkaido University

山田勇磨

2003年3月に北海道大学・薬学部を卒業、同年6月に薬剤師免許を取得。

2005年3月に同大学・大学院薬学研究科・修士課程を修了し、同研究科・博士課程に進学。

2006年4月より日本学術振興会特別研究員 (DC2) を務め、2007年1月に同大学・大学院薬学研究院・助手に着任 (博士課程中退)、2008年9月に博士 (薬学) [北海道大学] を取得。指導教員は原島秀吉教授。

2008年10月より現職の同研究院・助教に着任し、2010年4月から2013年3月まで「先駆的医薬品・医療機器研究開発支援事業」の総括研究代表者を務めた。

2009年4月より北海道大学病院・薬剤部にて診療補助従事者 [薬剤師] を兼務し、2011年には同病院・東日本大震災医療救護班として復興支援活動に従事した。

2011年に2nd World Congress on Targeting Mitochondria [NINA PHARM ISANH Award] を受賞。

2014年に日本薬学会「日本薬学会奨励賞」、日本薬剤学会「日本薬剤学会奨励賞」を受賞。

座右の銘『薬学とは人の役に立つための学問である』

連絡先: u-ma@pharm.hokudai.ac.jp

(やまだ ゆうま)

はじめに

皆さんは「ミトコンドリア (Mt)」と聞いて何を思い浮かべるだろうか? 1898年にC. Bendaは『多くの哺乳類の細胞内に見える糸状 (mitos) の顆粒 (chondros)』を“mitochondria”と命名した。本オルガネラは、独自のゲノム (mtDNA) を保有し、エネルギー産生、アポトーシスの誘導制御などの生命維持に必要な不可欠な役割を担っており、その機能異常は種々の疾患 (進行性変性疾患、心疾患、糖尿病など) と関連している。これらの疾患を治療するためには、疾患細胞 Mt へ治療分子を送達する必要がある。筆者は、『細胞内動態を制御するナノマシンの創製』を主要テーマとする北海道大学・大学院薬学研究科の原島秀吉先生の研究室へ配属を希望し、学部4年次からこれまで一貫して Drug Delivery System (DDS) を中心とする研究・教育に従事してきた。原島研究室で Mt 標的型 DDS の構築に着手した2002年当時を振り返ってみると、高校生のときに観た、瀬名秀明氏原作の映画『パラサイトイブ』に登場したオルガネラが Mt であるという程度の知識しかなく、まずは構築する DDS の目的地 Mt の構造・機能を学ぶことから研究をスタートさせたことを記憶している。Mt へ分子を送達するためには、細胞膜を突破し、さらに Mt の2層の膜構造

を乗り越えなければならない。2002年時点では、タンパク質や核酸などの高分子の Mt 送達は難しく、有用なキャリアが多数開発されている核や細胞質とは異なり、Mt を標的としたタンパク質治療・遺伝子治療の実現は非常に困難な状況にあった。

膜融合を介したミトコンドリア分子送達を実現するリポソーム MITO-Porter の開発

Mt は細胞内で活発に融合・分裂を繰り返し、相互に生体分子 (核酸、タンパク質など) を共有している。われわれはこの点に着目し、Mt と膜融合可能な二重膜小胞 (リポソーム)、MITO-Porter を考案した (図1)¹⁾。本戦略では、「膜融合を介して内封分子を Mt へ送達する」ため、送達分子の物性やサイズを制限しない。本コンセプトを実現するために、単離 Mt と蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) を利用した Mt 膜融合性脂質の探索を行い、100種以上の組成の中から Mt 高融合性リポソーム (MITO-Porter) を同定し特許を取得した (特許 第5067733号)。また、MITO-Porter の細胞内動態を観察し、内封したモデル高分子 [緑色蛍光タンパク質、金コロイド、など] が生細胞の Mt 内部まで送達されることを確認している¹⁾。

MITO-Porter を用いた Mt を標的とする疾患治療戦略の有用性を

若手研究者のひろば

図1 MITO-Porterの送達戦略

検証するために、抗酸化タンパク質 superoxide dismutase(SOD)をMtへ送達し、その治療効果を評価した[聖マリアンナ医大・五十嵐理慧先生・武永美津子先生らとの共同研究]。五十嵐先生らが合成したSOD脂質誘導体・PC-SODを搭載したMITO-Porterを構築し、活性酸素発生モデル細胞における抗酸化効果を検証した。その結果、PC-SOD搭載MITO-Porterの投与は、未処理群およびPC-SOD単独群と比較して有意に活性酸素除去細胞を増加させることを確認した²⁾。さらに、Mt作動性抗アポトーシス薬・ボンクレキン酸(BKA)を搭載したMITO-Porterを構築し、アポトーシス誘導細胞を用いて抗アポトーシス効果を評価した[九大・新藤充先生らとの共同研究]³⁾。評価の結果、BKA搭載MITO-PorterはBKA単独投与時と比較して、抗アポトーシス効果を著しく増強させることを確認した。

進化するMITO-Porter—遺伝子治療およびライフサイエンスへの応用

MITO-Porterを細胞膜融合性脂質でコーティングした多重型構

造のDual Function(DF)-MITO-Porterは、細胞膜・Mt膜を段階的に突破する効率的なMt送達を実現する^{4,5)}。DF-MITO-Porterの細胞内動態を観察したところ、従来型MITO-Porterと比較して多数のキャリアがMtに集積している様子が確認され、生細胞Mt送達における多重型構造体の有用性が示された^{4,5)}。次に、mtDNAを標的としたアプローチとして、DNase Iタンパク質封入DF-MITO-Porterを構築し、生細胞Mtへの送達およびmtDNAへの作用を検証した^{4,5)}。その結果、mtDNAの分解、それに伴うMt活性の低下が観察され、DF-MITO-Porterの遺伝子治療用キャリアとしての有用性が実証された。MITO-Porterシステムを遺伝子治療・ライフサイエンスに応用するために、Mtを標的とする核酸送達研究にも着手している。『Mt標的型核酸キャリアの構築』に関しては、DF-MITO-Porterへの核酸搭載に成功し、細胞導入能・Mt送達能・細胞/Mt毒性を定量的に評価し、本システムがMt標的型核酸キャリアとしても有用である確認した⁶⁾。『*in vivo*適応Mt核酸送達技術の確立』

に関しては、Mtの病態を呈するおもな組織である骨格筋を標的とした遺伝子送達を、ハイドロダイナミクス法(大容量の遺伝子溶液を短時間で投与し物理的に臓器細胞内に導入する方法)を用いて検討した。投与部位、投与時間、投与量を検討し、約7,000 bpのpDNAをラット骨格筋Mt内部に導入することに成功した⁷⁾。現在は、MITO-Porterシステムとハイドロダイナミクス法を統合した*in vivo*適応Mt標的型核酸送達システムの開発を検討している。

おわりに

われわれが開発したMITO-Porterシステムは目的分子をMtに送達することが可能なため、疾患の治療・診断(治療分子送達)、美容・健康の維持(老化・肥満抑制因子送達)に応用可能である。また、核酸・遺伝子の送達にも適応しているので、遺伝子治療・ライフサイエンスの発展への貢献が期待される。今後は、Mt送達学という新たな領域を切り開き、医療・ライフサイエンスに大きなインパクトをもたらす研究へと発展させていきたい。Mt標的型DDSおよび関連する分野に興味のある方は是非ともご連絡いただきたい。

文献

- 1) Yamada Y et al.: Biochim Biophys Acta, 1778: 423-432, 2008
- 2) Furukawa R et al.: Biochem Biophys Res Commun, 404: 796-801, 2011
- 3) Yamada Y et al.: Journal of Pharmaceutical Sciences, 102: 1008-1015, 2013
- 4) Yamada Y et al.: Mol Ther, 19: 1449-1456, 2011
- 5) Yamada Y et al.: Biomaterials, 33: 1589-1595, 2012
- 6) Yamada Y et al.: Journal of Nanoparticle Research, 14: 2012
- 7) Yasuzaki Y et al.: J Control Release, 172: 805-811, 2013