ミトコンドリア DDS が拓く新しい薬剤学

山田 勇磨

Mitochondrial DDS Opens Innovative Pharmaceutics

Yuma Yamada

Laboratory for Molecular Design of Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Hokkaido University; Kita-12 Nishi-6, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan.

(Received August 5, 2015)

A variety of human diseases, including neurodegenerative disorders, ischemic heart disease, diabetes, and cancer have been reported to be associated with mitochondrial dysfunction. Because of this, mitochondrial therapy is expected to be useful and productive in the treatment of such diseases. We previously reported on the development of a MITO-Porter, a liposome-based nanocarrier that permits macromolecular cargos to be delivered into mitochondria *via* membrane fusion. Intracellular observations using the green fluorescence protein as a model macromolecule provided confirmation that a macromolecule could be delivered to mitochondria in living cells by the MITO-Porter. Here, we present our current findings on the development of mitochondrial medicine and mitochondrial gene therapy based on our mitochondrial drug delivery system (DDS). In this review, we propose “mitochondrial DDS” as a theme for “DDS research for innovative drug development” and discuss the contribution of mitochondrial DDS to innovative drug development.

Key words—drug delivery system; mitochondria; MITO-Porter; nanomedicine; gene therapy

1. はじめに

近年、ミトコンドリアの機能不全と様々な疾患（神経変性疾患、心筋梗塞、糖尿病、など）との関連が明らかとなっており、本オルガネラを標的とした薬物治療が注目されている。¹⁾これらの疾患を治療するためには、ミトコンドリアへ治療分子を送達する薬物送達システム（drug delivery system; DDS）が必要不可欠である。これまでに、ミトコンドリアへの分子送達の重要性は十分に認識されており、DDS 分野の総説においてミトコンドリア DDS の開発状況がたびたび紹介されているが、²⁻⁶⁾疾患治療を実現するレベルには達していない。その原因として、タンパク質・核酸などの高分子は堅固なミトコンドリア膜を突破するのが非常に難しく、大きな治療効果が期待されるタンパク質治療・遺伝子治療の実現が困難な状況であることが挙げられる。

このような背景の下、筆者はナノテクノロジー技術を駆使したキャリア開発を進め、独自のミトコンドリア DDS として膜融合を介してミトコンドリア内部へ分子を送達するミトコンドリア融合性リポソーム MITO-Porter の構築に成功している（特許第 5067733 号）。⁶⁻⁹⁾MITO-Porter は、『膜融合を介して内封分子をミトコンドリア内へ送達する』ため、送達分子種のサイズや物性を制限しない DDS になり得る [Fig. 1(A)]。そのため、呼吸鎖複合体タンパク質・遺伝子核酸などのミトコンドリア治療の高次構造分子の送達が可能になると考えた。これまでに MITO-Porter の細胞内動態を観察し、内封高分子 [Green fluorescent protein (GFP), 金コロイド, など] が生細胞のミトコンドリア内部まで送達されることを確認している [Fig. 1(B)]。⁷⁾さらに、MITO-Porter が細胞膜融合性エンベロープでコーティングされた多重型の dual function (DF)-MITO-Porter を構築し [Fig. 1(C)]、細胞膜及びミトコンドリア膜を段階的に突破する効率的なミトコンドリア送達を試みた。¹⁰⁻¹²⁾共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いた細胞内動態観察及び画像解析を基盤

北海道大学大学院薬学研究院薬剤分子設計学研究室
(〒060-0812 札幌市北区北 12 条西 6 丁目)

e-mail: u-ma@pharm.hokudai.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 135 年会シンポジウム S08 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 1. Research Summary of Mitochondrial Delivery by the MITO-Porter System

A, Schematic image of mitochondrial delivery by the MITO-Porter via membrane fusion.⁸⁾ B, Electron microscopy analysis for the mitochondrial delivery of Gold colloid particles in living cells.⁷⁾ Mt indicates mitochondria. C, Schematic structure of the DF-MITO-Porter.¹⁰⁾ D, Evaluation of the fraction of mitochondrial positive targeted cells for the DF-R8-MITO-Porter and the conventional R8-MITO-Porter.¹⁰⁾

とした定量評価の結果、DF-MITO-Porter は従来型の MITO-Porter のミトコンドリア送達効率を飛躍的に上昇させ [Fig. 1(D)], 細胞ミトコンドリア送達における多重型構造の有用性が示された。¹⁰⁾

2008 年に MITO-Porter コンセプトを提唱した論文がアクセプトされるまではミトコンドリアへ目的分子を送達することをゴールとして研究を進めてきたが、MITO-Porter を医療に貢献する基盤技術として発展させたいと考え、これまで紹介した一連の研究成果を基に、【医薬基盤研究所・先駆的医薬品・医療機器研究発掘支援事業】に「ミトコンドリア標的型 DDS の開発」を提案し、幸運にもこの提案を受け入れて頂き、2010 年より『ミトコンドリア創薬・治療を目指した研究』を始動する機会を得た [若手研究者支援分野【10-62：ミトコンドリア標的型 DDS の開発】総括研究代表者 (2010.4–2013.3)]. 本プロジェクトの一環として 3 年連続で主催したシンポジウムを機会に、異分野の研究者・臨床家との共同研究を通じて様々な事業の展開を準備することができた。また、ミトコンドリア創薬・治療を具体的に考えるきっかけともなり、*in vivo* 適応型ミトコンドリア DDS の研究にも着手した。本総説では、本プロジェクトより始動した、ミトコンドリア DDS による『ミトコンドリア創薬開発』及び『ミトコンドリア遺伝子治療』に関する筆者の所属する研究室の最新の研究成果を中心に紹介したい。

また、『DDS 研究が拓く次世代創薬』のテーマの 1 つとして『ミトコンドリア標的型 DDS』を提案し、次世代創薬に関する展望も述べたい。

2. ミトコンドリア創薬開発を目指した研究：虚血再灌流障害モデルを用いたミトコンドリア治療戦略の検証

ミトコンドリア DDS による疾患治療の proof of concept (POC) として、培養細胞を用いた研究から着手した。これらの研究は、ミトコンドリア作動性分子を研究・開発・合成されている異分野の先生方と連携した共同研究として実施した。「アポトーシス作動薬マストパランの細胞導入 (ミトコンドリア生化学者である徳島大・篠原康雄教授/山本武範講師との共同研究)」では、篠原教授のグループが研究されているアポトーシス作動薬マストパランを細胞に導入し、細胞内でのミトコンドリア作用を評価することに成功した。¹³⁾ 「抗酸化分子 phosphatidylcholine-conjugated superoxide dismutase (PC-SOD) 搭載キャリアの開発及び抗酸化評価

山田勇磨

2005 年北海道大学薬学部博士課程進学、2006 年日本学術振興会特別研究員、2007 年同助手に就任、2008 年博士 (薬学) 取得、同 10 月より現職、助教。2011 年東日本大震災医療救護班として復興支援活動に従事、2014 年に日本薬学会奨励賞、日本薬剤学会奨励賞、2015 年に日本 DDS 学会奨励賞を受賞。

Fig. 2. Schematic Images of the Prevention of the Hepatic I/R Injury by the Mitochondrial Delivery of CoQ₁₀ Using the MITO-Porter System¹⁶⁾

CoQ₁₀-MITO-Porter reaches the liver tissue *via* systemic injection, and the carrier is then internalized into hepatocytes *via* macropinocytosis. In the cytosol, the carrier delivers CoQ₁₀ to mitochondria *via* membrane fusion, resulting in the creation of a pharmacological effect of CoQ₁₀ in mitochondria. CoQ₁₀, coenzyme Q₁₀; I/R, ischemia/reperfusion; ROS, reactive oxygen species. This figure is reproduced in part with permission from Elsevier.

(DDS 製剤開発の実績のある聖マリアンナ医大・五十嵐理恵教授/武永美津子教授との共同研究)」では、五十嵐教授のグループが開発した抗酸化分子 PC-SOD のミトコンドリア送達を実現し、抗酸化効果を増強させることに成功した。¹⁴⁾「抗アポトーシス作動薬 bongkrekic acid (BKA) 搭載 MITO-Porter の開発 (有機合成化学者である九州大・新藤 充教授との共同研究)」では、新藤教授のグループが合成した抗アポトーシス作動薬 BKA を搭載した MITO-Porter の構築に成功し、BKA のミトコンドリア送達に伴う強力な抗アポトーシス効果を発揮させることに成功した。¹⁵⁾

これらの研究成果より、MITO-Porter を用いた培養細胞 (*in vitro*) での疾患治療戦略の有用性を示すことができたが、ミトコンドリア創薬へと発展させるためには動物実験 (*in vivo*) での疾患治療戦略の検証が必要不可欠である。そのため、*in vivo* 適応型 DDS の開発、病態モデルを用いた研究を始動するに至った。ここでは、「虚血再灌流障害モデルを用いたミトコンドリア治療戦略の検証」について、詳しく紹介する。本研究は、肝虚血再灌流障害モデルマウス構築の専門家でもある北大・保健科学院・尾崎倫孝教授との共同研究として実施した。虚血再灌流障害モデルマウスの肝臓ではミトコンドリア由来の活性酸素が過剰発生しており、肝臓を傷害し肝臓障害マーカー alanine aminotransferase (ALT) 値が高値となると予想される。そのため、ミトコンドリアに抗酸化分子を送達した場合には、活性酸素が除去されミトコンドリア障害が軽

減される治療効果が得られると期待した (Fig. 2)。

本実験では、抗酸化分子 coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) を搭載した MITO-Porter (CoQ₁₀-MITO-Porter) を構築し、肝臓集積・ミトコンドリア移行の評価及び肝臓障害保護効果の検証を行い、MITO-Porter の薬物治療用キャリアとしての有用性を検証した。

2-1. CoQ₁₀-MITO-Porter の構築及び肝臓集積・ミトコンドリア移行の検証 はじめに CoQ₁₀ を MITO-Porter の脂質エンベロープに搭載した CoQ₁₀-MITO-Porter の構築に着手した。種々の検討より、難水溶性分子 CoQ₁₀ の搭載にはエタノール希釈法が適しており、ポリエチレングリコール (PEG) 含有脂質膜組成において、100 nm 以下の正に帯電した CoQ₁₀-MITO-Porter を調製することに成功した。¹⁶⁾ CoQ₁₀-MITO-Porter は従来型 MITO-Porter と異なり PEG を含有したエンベロープ膜を有している。そのため、CoQ₁₀-MITO-Porter のミトコンドリア結合能・融合能をマウス肝臓より単離したミトコンドリアを用いて評価し、MITO-Porter の構成成分でミトコンドリア結合・融合に重要な役割を果たす膜透過性ペプチド・オクタアルギニン八重合体 (R8) のキャリア修飾量の最適化を図った。結合能を評価したところ、R8 修飾量の増加に伴い結合能が上昇する従来型 MITO-Porter と同様の傾向を示した。¹⁶⁾ 一方、膜融合能を評価したところ、10 mol% R8 修飾で高い融合能を示した従来型 MITO-Porter とは異なり、CoQ₁₀-MITO-Porter は 3 mol% R8 修飾が最適であった [Fig. 3(A)].¹⁶⁾ これらの検討結果より、エタノール希釈

Fig. 3. Mitochondrial Fusogenic Activities of the CoQ₁₀-MITO-Porter and the Quantification of Mitochondrial Accumulation in Liver following Systemic Injection¹⁶⁾

A, Mitochondrial fusogenic activities of the CoQ₁₀-MITO-Porter modified with different amounts of R8. Data are the means $\pm$ S.D. ($n=3$). **Significant differences ($p<0.01$) were calculated by Student-Newman-Keuls (SNK) test. B, Quantification of carrier accumulation in liver mitochondria by RI. CoQ₁₀-MITO-Porter (3 mol% of R8), MITO-Porter and PEG-LP labeled with [³H]-CHE were systemically injected into the tail vein of mice. The values relative to mitochondrial targeting activity were calculated from the [³H] content in the liver mitochondrial lysate at 1 h after injection. Bars indicate means $\pm$ S.D. ($n=3-5$). **Significant differences ($p<0.01$) between PEG-LP and others were calculated by Bonferroni test. This figure is reproduced in part with permission from Elsevier.

法を利用して調製した PEG 脂質と CoQ₁₀ を含有する脂質膜エンベロップ [1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidyl ethanolamine (DOPE)/sphingomyelin (SM)/1,2-dimyristoyl-sn-glycerol, methoxy polyethylene glycol (DMG-PEG2000)/CoQ₁₀ (9/2/0.33/1.8)] に 3 mol% R8 修飾を施したキャリアを CoQ₁₀-MITO-Porter として以後の評価に用いることとした。

次に、蛍光標識を施した CoQ₁₀-MITO-Porter をマウスに尾静脈投与し、肝臓を摘出し、肝臓組織切片を共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて蛍光観察した。その結果、本キャリア由来の蛍光シグナルが肝臓細胞内で多数観察された。¹⁶⁾ さらに、ラジオアイソトープ (RI) 標識を施したキャリアをマウスに尾静脈投与した後に、肝臓摘出、ミトコンドリア単離を行い、肝臓ミトコンドリアへの RI 集積を定量的に評価した。評価の結果、CoQ₁₀-MITO-Porter は肝臓移行能の有さないネガティブコントロールである PEG リポソームと比較して肝臓及び肝細胞ミトコンドリアへ効率的に移行することが確認された [Fig. 3 (B)].¹⁶⁾ これらの結果より、CoQ₁₀-MITO-Porter をマウスに尾静脈投与した際に、肝臓ミトコンドリアへ移行することが確認され、本システムは CoQ₁₀ の肝臓ミトコンドリア標的とした *in vivo* 分子送達が可能であることが示唆された。

2-2. 肝虚血再灌流障害モデルマウスを用いた肝障害保護効果の検証 CoQ₁₀-MITO-Porter の肝障害保護効果を検証するために、CoQ₁₀-MITO-

Porter, 既存のミトコンドリア標的型 CoQ₁₀ (MitoQ),¹⁷⁾ CoQ₁₀ 分子を投与し、虚血再灌流障害時の ALT 値を測定した。評価の結果、MitoQ 及び CoQ₁₀ 分子単独投与では ALT 値の減少は確認されなかったが、CoQ₁₀-MITO-Porter の投与は肝障害時の ALT 値を有意に減少させることを確認した (Fig. 4).¹⁶⁾

さらに、キャリアのミトコンドリア結合能・融合能が障害抑制効果に与える影響を検証した。評価には、ミトコンドリア結合能・融合能を有する CoQ₁₀-MITO-Porter, ネガティブコントロールとしてミトコンドリア結合能・融合能の有さないキャリア (EPC-LP), ミトコンドリア結合能のみを有するキャリア (R8-EPC-LP) を用い、虚血再灌流障害時の相対的 ALT 値を測定した。その結果、ミトコンドリア融合能の高い CoQ₁₀-MITO-Porter でのみ ALT 値の減少が確認され [Fig. 5 (A)], ミトコンドリア融合能の低いキャリアではミトコンドリア結合能の有無にかかわらず ALT 値の減少は観察されなかった [Fig. 5 (B)].¹⁶⁾ ミトコンドリア結合能のみを有する R8-EPC-LP においても ALT 値の減少が観察されなかったため、CoQ₁₀-MITO-Porter のミトコンドリア膜融合能が CoQ₁₀ の肝臓ミトコンドリア送達・治療効果に重要な役割を担っていることが示唆された。

2-3. ミトコンドリア創薬開発研究の将来展望 本章ではミトコンドリア創薬開発を目指した研究として、①静脈内投与時の肝臓集積・ミトコンドリア

Fig. 4. Evaluation of Hepatoprotective Effect from I/R Injury¹⁶⁾

Samples containing CoQ₁₀ were administered into mice. MITO-Porter uncoating CoQ₁₀ was used as a vehicle. Serum ALT activities were measured after hepatic I/R injury. Data are represented as the mean $\pm$ S.D. ($n=4$). *Significant difference between vehicle and others ($p<0.05$ by Bonferroni test). This figure is reproduced in part with permission from Elsevier.

ア移行を最適化した *in vivo* 適応型の CoQ₁₀-MITO-Porter の構築, ②CoQ₁₀-MITO-Porter 投与による虚血再灌流障害時の肝障害保護効果, に関する研究成果を紹介し, 『MITO-Porter がミトコンドリアを標的とした薬物治療用キャリアとして有用であること』を示してきた. 今後は, 「標的細胞選択的 DDS の構築」, 「病態モデルにおける治療効果の検証」, 「ミトコンドリア DDS の大量調製及び製剤化に関する検討」を実施し, ミトコンドリア創薬を加速させる研究を展開していきたいと考えている. そのた

めには, 異分野連携を加速させる必要であると考えており, ミトコンドリア DDS の製剤化・情報提供・ラベル包装・配送方法を整備し, 多くの皆さんに『使って頂ける DDS』を目指して, 共同研究を拡大している. 本システムは 2014 年から稼働し, 国内 7 件, 海外 3 件の実績があり (2015 年 7 月現在), 今後さらに拡大していきたい. 国内外への送付が可能なのでご興味ある方は是非ご連絡頂きたい.

3. ミトコンドリア遺伝子治療の実現を目指した研究: ミトコンドリアを標的とした *in vivo* 遺伝子導入法の確立

近年, ミトコンドリアゲノム (mtDNA) の変異・欠損と種々の疾患との関連が報告されており,^{18,19)} ミトコンドリアを標的とした遺伝子治療は, これまでの対処療法に代わる根本治療として注目されている. このような背景の下, ミトコンドリアを標的とした遺伝子機能制御を目標に, 「ミトコンドリアを標的とした *in vivo* 遺伝子導入法の確立」,^{20,21)} 「ミトコンドリアゲノムを標的とした機能性分子送達」,^{10,11,22)} 「ミトコンドリア遺伝子発現・抑制機構の解明」^{23,24)} を中心に研究を展開してきた. ここでは, 「ミトコンドリアを標的とした *in vivo* 遺伝子導入法の確立」について, ミトコンドリアの病態を呈する主な組織である骨格筋を標的とした遺伝子導入に関する研究成果を詳しく紹介する.

Fig. 5. Investigation of the Binding and Fusion Activities of Carriers on the Hepatoprotective Effect from I/R Injury¹⁶⁾

Carriers containing CoQ₁₀ with different binding and fusion activities were administered to mice *via* intravenous injection. MITO-Porter and EPC-LP which do not contain CoQ₁₀ were used as vehicles. Relative ALT values were evaluated after the hepatic I/R injury. Data are represented as the mean $\pm$ S.D. ($n=4-6$). (A), Significant differences were determined by the unpaired Student's *t*-test ($*p<0.05$). (B), Significant differences between vehicle and others were calculated by Bonferroni test, and no significant difference (N.S.) was found. This figure is reproduced in part with permission from Elsevier.

Fig. 6. Schematic Image of Mitochondrial Gene Delivery in Skeletal Muscle by the Hydrodynamic Injection of Naked pDNA²⁰⁾

Naked pDNA was intravenously injected into the dorsalis pedis vein *via* hydrodynamic injection. It is generally thought that the pDNA is internalized into cells *via* hydrodynamic force, resulting in the localization of pDNA in mitochondria. This figure is reproduced in part with permission from Elsevier.

Fig. 7. Validation of Mitochondrial Delivery of pDNA Targeted to Skeletal Muscle²⁰⁾

A, Evaluation of exogenous pDNA-levels in mitochondria-enriched fraction following hydrodynamic injection. Naked pDNA was injected into the distal of the limb by the hydrodynamic injection of naked pDNA, and the mitochondria-enriched fraction was isolated from the crural muscles at 24 h postinjection. PCR assays were performed in order to detect endogenous mtDNA and exogenous pDNA, respectively. Lane 1, naked pDNA administration; lane 2, saline administration. B, Effects of injection volume (left graph) and the dose of pDNA (right graph) on mitochondrial delivery by the hydrodynamic injection of pDNA. At 24 h after hydrodynamic injection under various condition, the crural muscles were harvested, and the pDNA in mitochondria-enriched fraction was then measured using q-PCR. Bars indicate means $\pm$ S.E. ($n=3-7$). This figure is reproduced in part with permission from Elsevier.

3-1. ハイドロダイナミクス法を利用した骨格筋ミトコンドリアを標的とした遺伝子導入法の確立

骨格筋ミトコンドリアへ遺伝子を送達するためには、複数のバリアを突破して骨格筋ミトコンドリア内に遺伝子を導入する必要がある。遺伝子導入戦略として、Liu ら²⁵⁾及び Wolff ら²⁶⁾の独立した2グループから報告された Naked pDNA を尾静脈から投与し、マウス肝臓での効率的な遺伝子発現を実現するハイドロダイナミクス法に着目した。本法は、大容量の遺伝子溶液を短時間で投与し、遺伝子を物理的に臓器細胞内に導入する方法で、骨格筋遺伝子発現にも適用されている。²⁷⁾ 本法により、種々のバリアを物理的に突破し、遺伝子が骨格筋・核へ到達していると考え、ミトコンドリアにも送達され得ると考え、本投与法によるミトコンドリア遺伝子導入の検証を始めた (Fig. 6)。

骨格筋を標的としたハイドロダイナミクス法を実施するためには、高度な手技・習得が必要であったため、ハイドロダイナミクス法開発者である Prof. D. Liu (University of Georgia, USA) らの協力を得ながら、本手法の投与プロトコルを確立した。ラット骨格筋にハイドロダイナミクス法を利用して遺伝子導入した後、ミトコンドリアを純度よく単離し、PCR を利用してミトコンドリア内部の送達遺伝子を検出したところ、約 7000 bp の pDNA がラット骨格筋ミトコンドリア内部に導入されることを確認した [Fig. 7(A)].²⁰⁾ さらに、定量的 PCR 法を利用してミトコンドリア内部に送達された pDNA 量を定量し、本法による骨格筋ミトコンドリア遺伝子導入の至適な投与量、投与体積、投与速度を決定することに成功した [184 μ g (投与量), 3 mL (投与体積), 20 s/administration (投与速度)] [Fig.

7(B)].²⁰⁾

さらに、投与核酸のナノ粒子形成が骨格筋ミトコンドリア送達にどのような影響を与えるのかを検証したところ、プロタミンを用いて調製した正電荷を有する 100 nm 以下のナノ粒子構造を有する pDNA は、骨格筋ミトコンドリアへの送達効率を飛躍的に上昇することも見い出している。²¹⁾ 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* 適応ミトコンドリア標的型核酸送達システムの開発を検討している。また、静脈投与型の *in vivo* 適応型 DDS に関しても、先に紹介した肝臓ミトコンドリアへの分子送達を可能とする CoQ₁₀-MITO-Porter に加え、膵臓 (田端らの検討)、心臓 (阿部らの検討)、がん (宗近らの検討) を標的としたミトコンドリア DDS も開発中である。これらの臓器を標的とした静脈投与型ミトコンドリア標的型遺伝子・核酸キャリアを構築し、ミトコンドリア遺伝子治療用キャリアとして貢献できるように研究を進めていきたい。

3-2. ミトコンドリア遺伝子発現・機能制御研究の推進及び臨床応用へ向けた展開 本章では、ミトコンドリアを標的とした *in vivo* 遺伝子導入技術として「ハイドロダイナミクス法を利用した骨格筋ミトコンドリアへの遺伝子導入」に関する研究成果を紹介した。ミトコンドリアを標的とした遺伝子治療を実現するためには、ミトコンドリアへの遺伝子送達 (DDS 技術) とともにミトコンドリアにおける遺伝子機能制御 (遺伝子発現抑制、外来遺伝子発現、など) を可能とする“治療用分子の設計”が必要不可欠である。『ミトコンドリア遺伝子発現抑制』に関しては、膜電位維持に関連するタンパク質 (COX2) をコードする mtDNA 由来のミトコンドリア mRNA を標的としたアンチセンス RNA を MITO-Porter に搭載し、培養細胞ミトコンドリアに送達し標的ミトコンドリア mRNA・タンパク質がノックダウンされることを確認している。²⁴⁾ 現在は、機能性核酸の設計・合成に関する研究を精力的に進めておられる九大・佐々木茂貴先生/谷口陽祐先生と連携した研究を進行中である (河村らの検討)。『ミトコンドリアを標的とした外来遺伝子発現』に関しては、ミトコンドリア発現型 DNA ベクターの設計・構築を進めており、ミトコンドリアにおける外来遺伝子発現に成功している。本成果は近日中

に学術雑誌で公開する予定である (安崎らの検討)。

今後は、ミトコンドリアを標的とした遺伝子治療の実現を目指し、ミトコンドリア病患者 (ヒト) を対象とした臨床応用へ向けた研究を進めていく予定である。その一環として 2014 年より、自主臨床研究「ミトコンドリア病に対する薬物治療法確立に向けた検討」に着手している [北海道大学薬学部・生命倫理委員会 承認済 (2014-003), 北海道大学医学部・倫理委員会 承認済 (医 14-061), 市立札幌病院・倫理委員会 承認済 (H26-050-224)]。本プロジェクトでは、患者由来の疾患細胞を用いてミトコンドリア遺伝子治療戦略の有効性を示すことを到達目標とし、北大病院、市立札幌病院、北大・薬学部の 3 施設で連携し、精力的に研究を進めている。

4. おわりに

本総説では、『DDS 研究が拓く次世代創薬』のテーマの 1 つとして『ミトコンドリア DDS』に関する研究成果を中心に紹介してきた。冒頭に述べたように、ミトコンドリア DDS は医療に大きく貢献する基盤技術として大きな可能性を秘めている。例えば、ミトコンドリア病は根治療法のない特定疾患に指定されているが、ミトコンドリア DDS は疾患ターゲットであるミトコンドリアへのアクセスを可能とし、ミトコンドリア創薬開発・研究を促進し得る。また、DDS 技術によってミトコンドリアを標的とした遺伝子導入・制御法が確立されれば、新たなモデル動物の作出が可能になり、世界に先駆けて様々な疾患の新しい治療法を確立することが可能となり、医療に対して大きなインパクトをもたらすことが期待される。このようなミトコンドリア医薬展開に関する研究群は、すべて異分野研究者・臨床家との密な連携を通じて実現するものでありミトコンドリア DDS 研究のみではなし得ない。今後は、『ミトコンドリア DDS を用いた次世代創薬』を究極の目標に据え、異分野研究者・臨床家と連携し研究を推進していき、本研究がオルガネラ関連疾患治療の一助を担えるよう努力していきたい。

謝辞 はじめに日本薬学会第 135 年会・シンポジウム『第 10 回 若手が拓く新しい薬剤学』における発表及び本総説を執筆する貴重な機会を与えて頂きましたオーガナイザーの静岡県立大学・浅井知浩先生、東北大学・立川正憲先生に御礼申し上げます。

す。本研究は、北海道大学大学院薬学研究院・原島秀吉教授の主宰される薬剤分子設計学研究室において遂行されました。ご指導・ご鞭撻を賜りました原島教授、並びに、いつもご協力頂いております同研究室のスタッフ・学生の皆様に心より感謝申し上げます。また、ミトコンドリア DDS 研究の魅力を最大限に引き出して下さいました共同研究者の先生方に厚く御礼申し上げます。本研究は、科研費（若手研究 A、基盤研究 B、挑戦的萌芽研究、など）、財団（持田記念医学薬学振興財団、上原記念生命科学財団、など）などの支援に基づくものであり、この場を借りて感謝申し上げます。最後に、今回ご紹介した研究成果の多くは一緒に研究を進めてくれている学生諸氏の努力の賜物であり、深く感謝するとともに、今後の更なる飛躍を期待しております。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Schapira A. H., *Lancet*, **379**, 1825–1834 (2012).
- 2) Zhang E., Zhang C., Su Y., Cheng T., Shi C., *Drug Discov. Today*, **16**, 140–146 (2011).
- 3) Yamada Y., Harashima H., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 1439–1462 (2008).
- 4) Biswas S., Torchilin V. P., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **66**, 26–41 (2014).
- 5) Weissig V., *Pharm. Res.*, **28**, 2657–2668 (2011).
- 6) Kajimoto K., Sato Y., Nakamura T., Yamada Y., Harashima H., *J. Control. Release*, **190**, 593–606 (2014).
- 7) Yamada Y., Akita H., Kamiya H., Kogure K., Yamamoto T., Shinohara Y., Yamashita K., Kobayashi H., Kikuchi H., Harashima H., *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 423–432 (2008).
- 8) Yamada Y., Akita H., Harashima H., *Methods Enzymol.*, **509**, 301–326 (2012).
- 9) Yamada Y., Harashima H., *Methods Mol. Biol.*, **1141**, 57–66 (2014).
- 10) Yamada Y., Furukawa R., Yasuzaki Y., Harashima H., *Mol. Ther.*, **19**, 1449–1456 (2011).
- 11) Yamada Y., Harashima H., *Biomaterials*, **33**, 1589–1595 (2012).
- 12) Yamada Y., Harashima H., *Methods Mol. Biol.*, **1265**, 123–133 (2015).
- 13) Yamada Y., Shinohara Y., Kakudo T., Chaki S., Futaki S., Kamiya H., Harashima H., *Int. J. Pharm.*, **303**, 1–7 (2005).
- 14) Furukawa R., Yamada Y., Takenaga M., Igarashi R., Harashima H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **404**, 796–801 (2011).
- 15) Yamada Y., Nakamura K., Furukawa R., Kawamura E., Moriwaki T., Matsumoto K., Okuda K., Shindo M., Harashima H., *J. Pharm. Sci.*, **102**, 1008–1015 (2013).
- 16) Yamada Y., Nakamura K., Abe J., Hyodo M., Haga S., Ozaki M., Harashima H., *J. Control. Release*, **213**, 86–95 (2015).
- 17) Mukhopadhyay P., Horvath B., Zsengeller Z., Batkai S., Cao Z., Kechrid M., Holovac E., Erdelyi K., Tanchian G., Liaudet L., Stillman I. E., Joseph J., Kalyanaraman B., Pacher P., *Free Radic. Biol. Med.*, **53**, 1123–1138 (2012).
- 18) Wallace D. C., *Gene*, **354**, 169–180 (2005).
- 19) Taylor R. W., Turnbull D. M., *Nat. Rev. Genet.*, **6**, 389–402 (2005).
- 20) Yasuzaki Y., Yamada Y., Kanefuji T., Harashima H., *J. Control. Release*, **172**, 805–811 (2013).
- 21) Yasuzaki Y., Yamada Y., Fukuda Y., Harashima H., *Pharmaceuticals* (Basel), **7**, 881–893 (2014).
- 22) Yasuzaki Y., Yamada Y., Harashima H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **397**, 181–186 (2010).
- 23) Furukawa R., Yamada Y., Matsushima Y., Goto Y., Harashima H., *FEBS Open Bio*, **2**, 145–150 (2012).
- 24) Furukawa R., Yamada Y., Kawamura E., Harashima H., *Biomaterials*, **57**, 107–115 (2015).
- 25) Liu F., Song Y., Liu D., *Gene Ther.*, **6**, 1258–1266 (1999).
- 26) Zhang G., Budker V., Wolff J. A., *Hum. Gene Ther.*, **10**, 1735–1737 (1999).
- 27) Hagstrom J. E., Hegge J., Zhang G., Noble M., Budker V., Lewis D. L., Herweijer H., Wolff J. A., *Mol. Ther.*, **10**, 386–398 (2004).