

ナノカプセルでミトコンドリアのゲノム編集に成功

～ミトコンドリア遺伝子疾患治療に向けた新規技術の開発～

ポイント

- ・ゲノム編集装置をミトコンドリアへ直接送達するナノカプセル（MITO-Porter）を開発。
- ・ミトコンドリア内でのゲノム特異的切断に成功し、遺伝子疾患治療への応用に期待。
- ・ドイツ、アラブ首長国連邦の大学との国際共同研究による成果。

概要

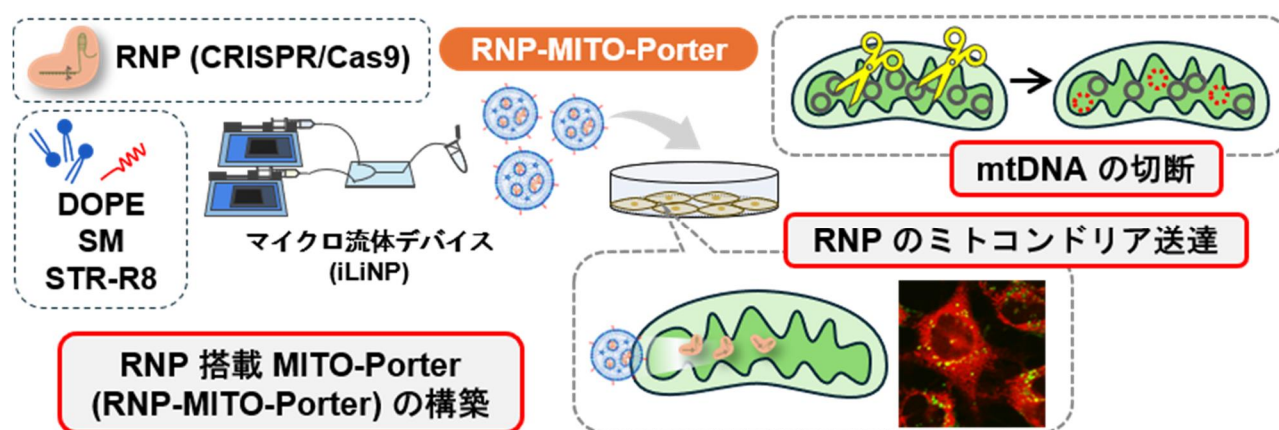
北海道大学大学院薬学研究院の山田勇磨教授、同大学院薬学研究院修士課程の野呂田楓氏（研究当時）、リューベック大学（ドイツ）の廣瀬みさ主任研究者らの共同研究グループは、ミトコンドリア標的型ナノカプセル（MITO-Porter^{*1}）を用いて CRISPR/Cas9^{*2} ゲノム編集装置（RNP）を哺乳類細胞のミトコンドリア内に直接送達し、特定の遺伝子変異を標的としたミトコンドリア DNA（mtDNA）のゲノム編集に成功しました。

ミトコンドリア DNA の変異は、様々な難治性疾患の原因となることが知られていますが、その二重膜構造がゲノム編集装置の導入を困難にしてきました。本研究では、独自開発した MITO-Porter に CRISPR/Cas9 の複合体を搭載し、哺乳類細胞のミトコンドリア内へ直接送り込むことに初めて成功しました。

研究グループはまずマイクロ流体デバイスを用いてナノカプセルを調製し、これにより均一かつ再現性の高いナノ粒子製剤を作成しました。次に、このナノカプセルをミトコンドリア変異細胞モデルに適用し、mtDNA 内の特定変異（m.7778G>T^{*3}）部位のゲノム特異的切断を実現しました。さらに、ヒト細胞（HeLa 細胞^{*4}）においても同様の成功を確認しました。

本研究成果は、ミトコンドリア遺伝子疾患の根治的治療法開発に貢献し、安全かつ効果的なゲノム編集技術の臨床応用に向けた重要な一歩となります。

なお、本研究成果は、日本時間 2025 年 6 月 19 日（木）公開の Scientific Reports 誌にオンライン掲載されました。



MITO-Porter を用いたミトコンドリアへのゲノム編集装置(RNP)送達概念図

【背景】

ミトコンドリアは細胞のエネルギー産生を担う極めて重要な細胞小器官であり、細胞の生存や機能維持に不可欠な ATP を産生します。加えて、独自の遺伝子（ミトコンドリア DNA; mtDNA）を有しており、核 DNA とは異なる独立した遺伝情報を保持しています。mtDNA の変異は、ミトコンドリア病⁵をはじめとするさまざまな難治性疾患を引き起こし、現在でも有効な治療法が限られています。しかしながら、ミトコンドリアは二重膜構造を有し、外来分子の取り込みが極めて難しいため、これまで mtDNA を標的とした遺伝子編集は技術的に大きな課題となっていました。本研究グループはこの壁を突破するため、MITO-Porter に着目し、ゲノム編集装置である CRISPR/Cas9 複合体（RNP）を効率的かつ直接的にミトコンドリア内へ送達する技術の開発に挑戦しました。

【研究手法】

研究グループでは、MITO-Porter を開発し、ミトコンドリアを標的とする薬物送達療法の検証を進め（Yamada, Y *et al*, *Adv Drug Deliv Rev* 154-155: 187-209（2020））、北海道大学大学院工学研究院の渡慶次学教授、真栄城正寿准教授と連携し、マイクロ流体デバイス技術を用いることにより「ナノレベルで精密に設計された MITO-Porter の製造を実現していました。（Hibino M *et al*, *Sci Rep* 13: 6961（2023））。本研究ではこの技術を活かし、RNP を搭載した RNP-MITO-Porter の構築を行いました。まず、m.7778G>T 変異を持つマウス由来のミトコンドリア変異細胞を用いて、特定変異部位に対するゲノム編集能力を詳細に評価しました。さらに、一般的なヒト細胞（HeLa 細胞）にも同様のアプローチを適用し、技術の汎用性と再現性を検証しました。

【研究成果】

単離ミトコンドリアにおける RNP-MITO-Porter の活性評価において、MITO-Porter への内包によって RNP の DNA の二本鎖切断活性が損なわれないことが示されました（図 1）。また、MITO-Porter を介してミトコンドリア内に送達された CRISPR/Cas9 複合体は、ターゲットとする mtDNA 配列を特異的に認識し、効果的な二本鎖切断を誘導しました。特に、m.7778G>T 変異を有するマウス由来細胞においてゲノム編集の可能性が示唆され（図 2）、さらにヒト細胞においても同様の結果が得られました。本研究成果は、これまで困難とされてきたミトコンドリアへのゲノム編集装置の直接送達を実現したものであり、ミトコンドリア遺伝子疾患治療に向けた画期的な基盤技術となると考えられます。

【今後への期待】

今回の成果により、ミトコンドリア遺伝子疾患に対して、従来の対症療法ではなく、根本的な原因に直接アプローチする治療戦略の可能性が大きく拓かれました。さらに本技術は、ミトコンドリア病に限らず、他の難治性疾患や加齢関連疾患など、ミトコンドリア機能障害に起因する幅広い病態への応用も期待されています。研究グループは今後、他種ミトコンドリア変異モデル細胞や動物個体を用いた応用研究を推進し、臨床応用に向けた開発を加速させていく予定です。

【謝辞】

本研究は、文部科学省・日本学術振興会科学研究費助成事業・基盤研究 A「ミトコンドリア遺伝子治療を実現するゲノム編集技術の創出」(JP23H00541)、基盤研究 S「LNP とスマートポリマーが創るコアシェル構造を有する活性型 mRNA 送達システム」(JP23H05451)及び学術変革領域研究 A「細胞内共生オルガネラのゲノム制御」(JP24H02270、JP24H02272)、科学技術振興機構 (JST) 創発的研究支援事業「ミトコンドリア人工共生が拓く新しい細胞生物学」(JPMJFR203X)、German Research Foundation (HI1813/7-1)の支援を受けて実施されました。

論文情報

論文名	Lipid nanoparticle delivery of the CRISPR/Cas9 system directly into the mitochondria of cells carrying m.7778G>T mutation in mtDNA (mt-Atp8) (ミトコンドリア DNA (mt-Atp8) に m.7778G>T 変異を有する細胞のミトコンドリアへ CRISPR/Cas9 システムを直接送達する革新的な脂質ナノカプセル)
著者名	野呂田楓 ¹ (研究当時)、石塚 宣 ¹ (研究当時)、廣瀬みさ ² 、佐藤悠介 ¹ 、真栄城正寿 ³ 、渡慶次学 ³ 、Saleh M. Ibrahim ^{2,4} 、原島秀吉 ¹ 、山田勇磨 ¹ 、(¹ 北海道大学大学院薬学研究院、 ² University of Lübeck (ドイツ)、 ³ 北海道大学大学院工学研究院、 ⁴ Khalifa University (アラブ首長国連邦))
雑誌名	Scientific Reports (科学研究の専門誌)
D O I	10.1038/s41598-025-03671-8
公表日	日本時間 2025 年 6 月 19 日 (木) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 山田勇磨 (やまだゆうま)

T E L 011-706-3919 F A X 011-706-3734 メール u-ma[at]pharm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakusetu/>

<https://www.pharm.hokudai.ac.jp/inps/>

JST 事業に関すること

科学技術振興機構創発的研究推進部 加藤 豪 (かとうごう)

T E L 03-5214-7276 F A X 03-6268-9413 メール souhatsu-inquiry[at]jst.go.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press[at]general.hokudai.ac.jp

科学技術振興機構広報課 (〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3)

T E L 03-5214-8404 F A X 03-5214-8432 メール jstkoho[at]jst.go.jp

【参考図】

【単離ミトコンドリア】

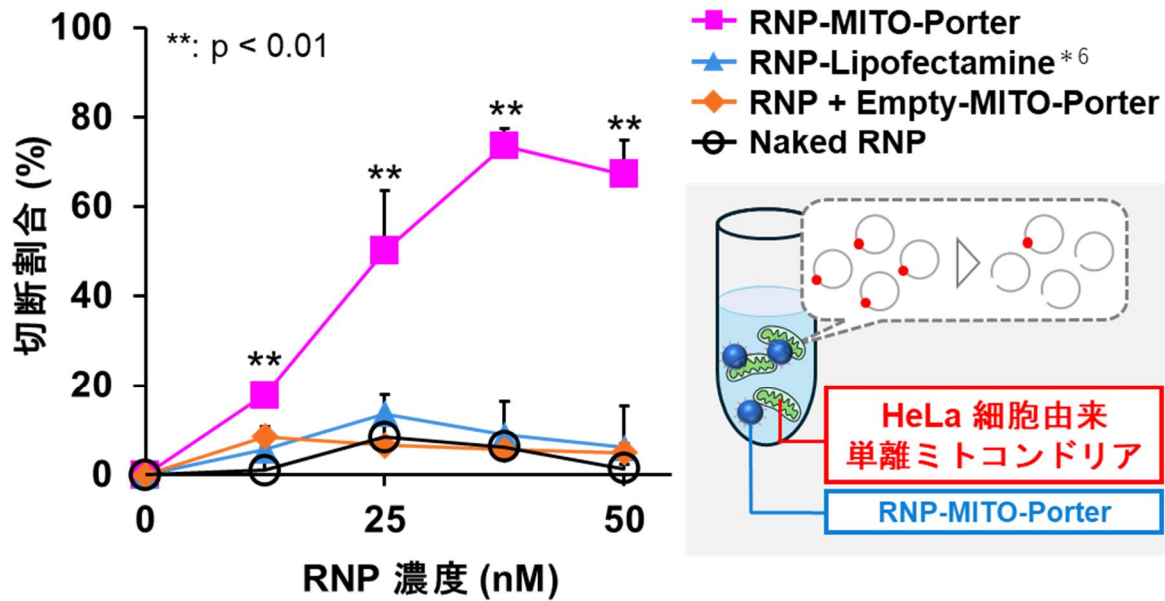


図 1. 単離ミトコンドリアにおける mtDNA の切断活性評価

【マウス由来変異細胞】

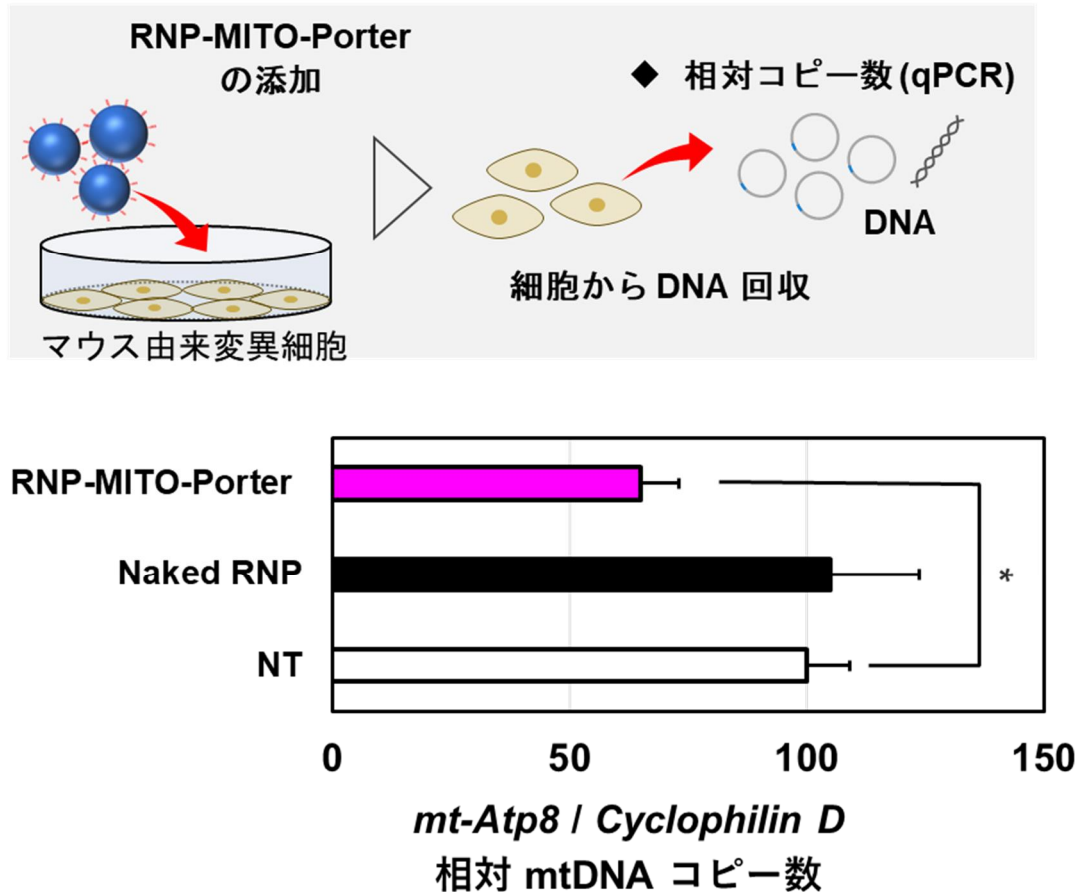


図 2. マウス由来変異細胞^{*7}における mtDNA の切断活性評価

【用語説明】

- * 1 MITO-Porter … ミトコンドリア標的型ナノカプセル（特許第 5067733 号、Yamada Y et al., Biochim Biophys Acta 1778: 423-432 (2008)）。
- * 2 CRISPR/Cas9 … DNA の二本鎖切断に基づく遺伝子編集ツール。Cas9 タンパク質と sgRNA の複合体は Ribonucleoprotein (RNP) と呼ばれる。
- * 3 m.7778G>T … ミトコンドリアゲノム (mtDNA) 上の 7778 番目の塩基における G から T への変異を表す。
- * 4 HeLa 細胞 … ヒト培養細胞株。
- * 5 ミトコンドリア病 … 「細胞のエネルギー工場」とも呼ばれるミトコンドリアの機能に障害が生じることによって発症する指定難病（番号 21）。その異常はエネルギー需要の高い臓器に大きな影響を及ぼし、特に、脳・筋肉・心臓・肝臓・腎臓などで症状があらわれる。
- * 6 Lipofectamine … 市販の細胞導入試薬。
- * 7 マウス由来変異細胞 … マウス (C57BL/6 N-mt^{FVB/NJ}) 由来皮膚線維芽細胞 (Yu, X. et al., Genome Res 19, 159-165 (2009))。mtDNA 上に m.7778G>T 変異を有する。