

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04010

研究課題名(和文) ニーマン・ピック病C型に対する脂質輸送担体療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of lipid carrier therapy using cyclodextrin derivatives against Niemann-Pick disease type C

研究代表者

入江 徹美 (Irie, Tetsumi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・教授

研究者番号：60150546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：先天代謝異常症ニーマン・ピック病C型(NPC)に対する2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin(HPBCD)脳室内投与療法の確立や新規創薬候補の探索を行い、以下の知見を得た。1)モデルマウスにおいて、約20-30  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ のHPBCD脳室内投与で、末梢循環血中に高濃度で移行することなく、中枢神経障害を改善する、2)この投与量で2週間に1回反復投与することでモデルマウスの生命予後ならびに諸症状を著明に改善する、3)HPBCDよりも物性面で優れ、安全性もしくは有効性に優れる化合物を数種類見出した。以上の成果は、NPC治療法開発に際し重要な基礎知見となると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

当初、NPC患者に施行されたHPBCD静脈内投与療法は、重篤な肺障害を引き起こし問題視されていた。本研究で見出したHPBCDの脳室内至適投与量は、これら肺障害などの有害作用回避につながり、かつ延命などの治療効果をもたらす可能性を示唆している。治療法のない遺伝難病NPCに対するHPBCD脳室内投与療法の科学的根拠を示す点で、学術的・社会的意義の高い研究成果であると考えられる。また、HPBCDよりも優れた物性や有効性・安全性を示す複数の治療薬候補化合物を見出し、学術誌で公表し、さらに、特許取得および出願を行った。HPBCDを凌駕する新規治療薬候補を見出した点からも社会的意義が高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HPBCD), a cyclic oligosaccharide, has been focused as an attractive drug candidate against Niemann-Pick disease type C (NPC), a rare autosomal recessive disease. We conducted this study to evaluate the efficacy and safety of intracerebroventricular HPBCD therapy and found the following results: (1) In animal experiments using mouse models, an intracerebroventricular injection of HPBCD (approximately 20-30  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ ) can improve NPC-related neuronal symptoms without excessive distribution in peripheral systemic circulation which may cause adverse reactions, such as lung and liver injuries. 2) Repeated treatment of intracerebroventricular HPBCD every two weeks at the doses can drastically improve lifespan and manifestations in NPC model mice. 3) We found out superior compounds with appropriate physicochemical properties as an injectable ingredient, and compounds which can show safer or more effective properties as a therapeutic agent against NPC.

研究分野：医療薬学

キーワード：Niemann-Pick病C型 Niemann-Pick type C Niemann-Pick disease ニーマンピック病C型 シクロデキストリン cyclodextrin

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ニーマン・ピック病 C 型 (NPC) は、患者の多くは 10 歳前後で呼吸不全や誤飲性肺炎などで亡くなる進行性の神経変性疾患である。NPC では、細胞内コレステロール輸送に関わる膜蛋白質 NPC1 または分泌性蛋白質 NPC2 の遺伝子変異により、細胞内コレステロールの代謝・輸送系が破綻し、遊離型コレステロールやスフィンゴ脂質類が異常に蓄積し、細胞機能が損なわれる。近年、2-hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin (HPBCD) を NPC モデルマウスに皮下投与すると、病状改善や延命に有効であることが偶然見出され、米国 FDA は、注射剤の製剤素材として臨床実績がある HPBCD の NPC 患者への人道的使用を 2009 年に特認した。

同じく 2009 年に、申請者らは佐賀大学医学部附属病院にて HPBCD 注射剤を調製し、NPC 患者に本邦初の HPBCD 療法をおこなった。その後、基盤研究(C) (23590642 および 233406) の支援を受け、基礎研究では、HPBCD が *Npc1* 欠損細胞の遊離型コレステロールを減少させエステル型コレステロールを増加させること、その効果に至適濃度範囲が存在することを明らかにした。臨床研究では、HPBCD を NPC 患者に静脈内投与後の動態を解析し、HPBCD の至適投与条件を確立した。NPC 患者への HPBCD 静脈内投与により、肝脾腫の縮小および脳波の改善傾向がみられたが、治療開始約 2 年後に誤嚥性肺炎に罹患した直後から、HPBCD 投与後に発熱、炎症性マーカーの軽度上昇を伴う肺野の透過性低下のエピソードを繰り返すようになったため、静脈内投与を中止した。

2011 年、HPBCD を NPC 病態モデルマウスの脳室内に投与すると、皮下投与の 1/100 以下の投与量で、神経変性が顕著に軽減することが報告された。申請者らの臨床研究において、NPC 患者への HPBCD の静脈内持続点滴では十分な神経学的な改善がみられないのは、分子量 1000 Da を超える水溶性環状オリゴ糖である HPBCD の中枢移行性の低さに起因すると考えられた。そこで、米国で準備中であった HPBCD 髄腔内投与とプロトコルに準じ、申請者らは脳室内に留置した Omayo リザーバーを介した HPBCD の脳室内投与を 2011 年 7 月から開始した。投与開始 10 年以上が経過したが、明らかな有害反応はなく、神経障害の進行が遅延し、脳脊髄液中総タウ蛋白質濃度の低下、脳波、magnetic resonance spectroscopy、positron emission tomography で脳機能の改善が認められた。申請者らの臨床研究開始 2 年後の 2013 年、米国で HPBCD の髄腔内 (脳室内) 療法の第 I 相試験が始まり、2016 年から第 IIb/III 相試験が開始されている。

現時点で、HPBCD は NPC に対する治療薬候補として最も有力な化合物であると思われるが、米国における臨床試験では髄腔内 (脳室内) 投与による聴覚障害などが問題視されている。申請者らは NPC 患者由来の人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) および *Npc1* 欠損マウスを用いて、HPBCD よりもグルコースが 1 分子多い 2-hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin が NPC 病態改善効果を有することを最近見出した。HPGCD は HPBCD よりも安全性に優れ、NPC 患者の iPS 細胞から分化した神経前駆細胞における遊離型コレステロールの異常蓄積の改善効果はほぼ同等である。申請者らは、有効な治療法がない重篤な神経変性を呈する難治性・進行性劣性遺伝病 NPC の患者に対する HPBCD 投与を人道的観点から進めてきた。申請者らが実施してきた 8 年間の臨床・基礎研究の成果を踏まえて、臨床事象をもとに基礎研究に立ち回り機構解明を経て、本治療法に科学的根拠を提供・補強するとともに、患者 ADL・QOL を高める新規創薬候補の探索を含めた脂質輸送担体療法の確立に向けた、基礎⇄臨床の橋渡し研究を実施することとなった。

### 2. 研究の目的

上述のような申請者らの HPBCD 脳室内投与療法に関するこれまでの研究成果を基盤に、本研究では、1) HPBCD の薬物動態解析に基づく至適投与量・投与条件の確立、ならびに 2) 患者 ADL・QOL を高める新規創薬候補の探索を行うことで、基礎-臨床の橋渡し研究を加速し、NPC 治療の最適化を図る。

### 3. 研究の方法

#### 実験材料

Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)、F-12 培地、ペニシリンストレプトマイシン、トリプシンは Gibco-Life Technologies (Life Technologies Japan, Tokyo, Japan) から購入した。Fetal bovine serum (FBS) は Biowest (Rue de la Caille, France) から購入した。リン酸緩衝液は和光株式会社 (Kyoto, Japan) から購入した。ミグルスタットは TOCRIS bioscience (Bristol, UK) から購入したものを共同研究先より送付して頂いた。2-Hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin (HPACD; 平均置換度: 5.0、平均分子量: 1267.00)、HPBCD (平均置換度: 4.61、平均分子量: 1402.38)、2-hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin (HPGCD; 平均置換度: 4.6、平均分子量: 1563.92) は日本食品化工株式会社 (Tokyo, Japan) から恵与された。また、6-O- $\alpha$ -maltosyl- $\beta$ -cyclodextrin (G2BCD、置換度: 1、分子量: 1459.27) は、塩水港精糖株式会社より恵与された。その他の試薬は市販の特級試薬を使用し、溶媒としての水は超純水を用い、Milli-Q Advantage プロテオームタイプ、Millipak Express 40 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) から採水した。

#### 動物

NPC 病態モデルマウスは、これまでの科学研究費助成事業で支援を受けた研究と同様に、*Npc1*<sup>-/-</sup>マウス (BALB/cNctr-*Npc1*<sup>tm1N</sup>) を用いた。コントロールとして野生型マウス BALB/cNctr を用いた。なお、本マウスは、鳥取大学名誉教授大野耕策博士ならびに取大学生命機能研究支

援センター檜垣克美博士より供与して頂いた。マウスの繁殖は、熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発研究部門（CARD）協力のもと、体外受精により行った。全ての動物実験は、熊本大学動物実験指針および倫理規定に則して行った。マウスは、12時間の明暗サイクル下（明期：8:00-20:00）で、不断給餌により飼育した。麻酔下マウスの頭部を固定し、頭頂部を切開した後、頭蓋骨の矢状縫合と冠状縫合の交点である Bregma から左に 1 mm、後ろに 0.4 mm、下に 2.3 mm の位置に薬液を投与した。投与速度は 0.1  $\mu\text{L}/\text{min}$  とし、投与中および投与終了後 30 分は体温を 37  $^{\circ}\text{C}$  に保温した。

#### **小脳病理学的解析**

マウスは大動脈を介して 4% リン酸緩衝パラホルムアルデヒド（4% PFA）で灌流しサンプルを摘出した。その後、4  $^{\circ}\text{C}$  で 4% PFA で固定し、パラフィンに包埋した。厚さ 3  $\mu\text{m}$  のミクロトーム切片を、プルキンエ細胞のマーカーである抗 calbindin D28K 抗体（N-18）（Santa Cruz Biotechnology Inc.; 1:100 希釈）にて 4  $^{\circ}\text{C}$  で一晩インキュベートした。切片はまた、Histofine® SimpleStain MAX PQ（ニチレイ、東京、日本）およびヘマトキシリンで染色した。組織像は Biorevo BZ-9000 顕微鏡システム（キーエンス社）を用いて撮影し、小脳全体でカルビンジン陽性細胞を計数した。

#### **マウス脳室内投与後の HPBCD 血中濃度解析**

薬物動態試験では、8 週齢の野生型 Balb/cN マウス（九動株式会社）に HPBCD を単回脳室内投与を行い、投与後 0.5、1 および 2 時間後にサンプリングを行った。血清中 HPBCD 濃度は高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（LC/MS/MS）により測定を行った。なお、サンプルの測定は、株式会社新日本科学安全性研究所に委託し行われた。

#### **肝障害解析**

病態モデルマウスを生後 8.3 週齢に達した時点で体重を測定し、血液および臓器サンプルを麻酔下にて採取した。血液は 3000  $\times\text{g}$ 、4  $^{\circ}\text{C}$  で 10 分間遠心分離し、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）およびアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）値の測定のために血清を採取した。血清 AST および ALT レベルは、バイオアナライザー（SPOTCHEM EZ SP-4430; ARKRAY, Inc.）を用いて測定した。肝臓サンプルは直ちに体重を測定し、その後、肝臓の肥大の指標として、体重に対する肝臓重量の比を推定した。肝小葉の一部を直ちに液体窒素中で凍結し、コレステロール測定のために -80  $^{\circ}\text{C}$  で保存した。組織ホモジネートを緩衝液（20 mM Tris, 2 mM エチレンジアミン四酢酸（EDTA）, 150 mM NaCl, および 1% Triton X-100, pH 8）中で調製し、Micro Smash™ MS-100R を用いて、4  $^{\circ}\text{C}$ 、4000 rpm で 30 秒間、3 回粉砕した。溶液を回収し、2 つに分けて、1 つは 37  $^{\circ}\text{C}$  で 30 分間、コレステロールエステラーゼとインキュベートしました。これらのサンプル中のコレステロール含量を Determiner L FC（協和発酵キリン株式会社）で測定した。他の肝葉は、直ちに 4% PFA で固定し、パラフィンに埋め込んだ後、ヘマトキシリン・エオジン染色のために 4  $\mu\text{m}$  厚の切片に切断した。

#### **使用機器**

遠心機はマイクロ冷却遠心機 3700（Kubota, Tokyo, Japan）を使用した。フローサイトメーターは BD Biosciences Accuri™ C6 Personal Flow Cytometer（Becton Dickinson Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA）を使用し、BD Accuri C6 software にて解析を行った。細胞数は Luna 自動計数装置（Logos Biosystems, South Korea）にて計測した。

#### **細胞培養**

野生型（WT）および NPC の原因遺伝子である *Npc1* 遺伝子を欠損させた Chinese hamster ovary（CHO）細胞（WT CHO 細胞および *Npc1* null CHO 細胞）は鳥取大学生命機能研究支援センター檜垣克美博士より供与して頂いた。培養には 10% FBS および 100 U/mL ペニシリン、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ストレプトマイシンを加えた DMEM/F12 の 1:1 混合物の培地を用いた。細胞はインキュベータ（MCO-18AIC（Sanyo, Tokyo, Japan））内で 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^{\circ}\text{C}$  に維持され、2-3 日ごとに継代を行った。

#### **LysoTracker® 蛍光強度の測定**

NPC 病変の指標として、リソソームの容積変化を LysoTracker® Green DND-26 の蛍光強度変化を測定することで評価した。WT CHO 細胞および *Npc1* null CHO 細胞を 12 ウェルプレートに  $1 \times 10^5$  細胞/ウェルで播種し、37  $^{\circ}\text{C}$  で 24 時間インキュベートした。細胞をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄し、10% FBS と抗生物質を含む DMEM/F12（1:1）に溶解した 50nM LysoTracker® で 37  $^{\circ}\text{C}$ 、15 分間染色した。次いで、細胞を 0.25% トリプシン処理後に回収し、フローサイトメーター（BD Biosciences Accuri™ C6, Becton Dickinson Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA）を用いて、488 nm レーザーを用いて LysoTracker® の蛍光を測定した。最後に、530  $\pm$  30 nm のフィルターを用いて、FL1 チャネルで蛍光を検出した。10,000 個の細胞からのデータを収集し、BD Accuri C6 ソフトウェア（Becton Dickinson Biosciences）を用いて、平均蛍光強度として示した。

#### **細胞内コレステロール定量**

WT CHO 細胞、*Npc1* null CHO 細胞を 6 well plate（ $1 \times 10^5$  cells/mL）に播種し、培養培地を用いて 37  $^{\circ}\text{C}$  で 24 時間前培養した。100  $\mu\text{M}$  ミグルスタット（溶媒は DMSO）または 1 mM 各種シクロデキストリン誘導体を含む培地に置換し、37  $^{\circ}\text{C}$  で 24 時間培養後、細胞を 0.25% トリプシンにより回収し、遠心を行った（4700 g, 10 min）。上清を取り除き、70  $\mu\text{L}$  のリン酸緩衝液で希釈後ホモジネートを行いサンプルとした。

細胞内のコレステロール量は、データミナー L FC により測定した。サンプル 50  $\mu\text{L}$  に、抽出液（ク

ロ口ホルム：2-プロパノール：NP-40 = 7:11:0.1) を 200  $\mu$ L 添加し、遠心を行った (4、15000 g、10 min)。ペレットをよけて下層をガラスチューブに 160  $\mu$ L 回収し、窒素乾固した (40、窒素ガス)。混合液 (2-プロパノール：アルキルエーテル：ラウリルエーテル = 87:10:3) 80  $\mu$ L を加え、総コレステロール用と遊離型コレステロール用に 30  $\mu$ L ずつ分注した。純水またはコレステロールエステラーゼ (ChE, 10 U/mL) 10  $\mu$ L 添加し、インキュベーション (37、30 min) 後、デタミナー-LFC のプロトコルに従い、溶液中のコレステロールを定量した。なお、エステル型コレステロール量は、総コレステロール量から遊離型コレステロール量を除することにより算出した。また、BCA protein assay を行うことで補正を行った。

#### 細胞内スフィンゴ脂質定量

WT CHO 細胞、*Npc1* null CHO 細胞を 100 mm dish ( $5 \times 10^4$  cells/mL) に播種し、培養培地を用いて 37 で 24 時間前培養した。100  $\mu$ M ミグルスタットまたは 1 mM 各種シクロデキストリン誘導体を含む培地に置換し、37 で 24 時間培養後、細胞を 0.25% トリプシン処理後に回収し、遠心分離を行った (4700 g、10 min)。細胞数を計測し、 $1 \times 10^6$  cells/mL 細胞懸濁液を調製後、1 mL 分取した。 $1 \times 10^6$  cells を 50  $\mu$ L の Lysis buffer で溶かし、BCA protein assay 後、タンパク量 1mg/mL に調製した。そのうち 20  $\mu$ L を採取し、80  $\mu$ L の (MeOH : BuOH = 1 : 1) 溶液を添加したものをサンプルとして -80 にて保管した。

サンプルは株式会社小野薬品工業に LC/MS/MS による測定を依頼した。

## 4. 研究成果

これまでの科学研究費助成事業で支援を受けた研究で、細胞添加培地中および動物血中での HPBCD の有効濃度は約 1 mM で、脳室内投与の至適投与量は約 30  $\mu$ g/kg であることがわかっている。この投与量を基準に、脳室内投与時の薬物動態ならびに有効性評価を行った。その結果、HPBCD をマウスに単回脳室内に投与したときの末梢血中濃度は投与後 30 分で約 0.09  $\mu$ M であり、投与 2 時間後では検出限界以下であった。この結果から、本投与方法において、HPBCD はごくわずかな量しか末梢臓器に移行しないことが示唆された。高用量 HPBCD 静脈内投与療法 (約 2000-4000 mg/kg) では肺障害などの有害作用が問題になることから、脳室内投与療法の、安全性の面からも優れていることが薬物動態学的観点からも示唆された。次に、NPC 病態モデルマウスに、生後 28 日後から二週間に 1 回の頻度で脳室内反復投与 (1 回 30  $\mu$ g/kg) を実施した。その結果、無処置のモデルマウスが生後 80 日程度でほぼ全個体が死亡するのに対し、HPBCD 反復投与を継続することで、最も早い個体でも 280 日でエンドポイントに到達し、複数の個体が 300 日以上生存した。過去の本マウスで有効性評価が行われた様々な薬効評価試験の成績より顕著に優れており、HPBCD 脳室内投与の有効性が示唆された。

NPC ではライソゾームに遊離型コレステロールだけでなくスフィンゴ脂質類の異常蓄積がみられる。そこで、本研究では、スフィンゴ脂質類蓄積に及ぼす各種シクロデキストリン誘導体添加の影響を *Npc1* 遺伝子欠損 Chinese hamster ovary (以下 *Npc1* null CHO) 細胞にて評価した。その結果、*Npc1* null CHO 細胞において、スフィンゴミエリン (SM) およびヘキサシルセラミド (HexCer) の蓄積がみられ、その蓄積は HPBCD および HPGCD 処理により減少した。興味深いことに、リン脂質と相互作用する HPACD を処理した場合には、HPBCD、HPGCD のような減少効果は見られなかった。また、NPC に唯一承認されている治療薬 (米国では未承認) ミグルスタット処理では、合成酵素阻害作用による HexCer の顕著な減少がみられたが、SM はむしろ増加傾向を示した。さらに、WT CHO 細胞においても、ミグルスタット処理により HexCer が減少したのに対して、いずれのシクロデキストリン誘導体を処理した場合も、WT CHO 細胞の細胞内脂質量に影響しなかった。以上の結果より、HPBCD および HPGCD は、*Npc1* null CHO 細胞における SM の異常蓄積を改善することが示唆された。また、シクロデキストリン誘導体とミグルスタットでは、NPC のスフィンゴ脂質類の蓄積に対して異なる作用を示すことが明らかとなった。リン脂質との相互作用が HPACD よりも弱い HPBCD および HPGCD 処理によって SM の減少効果がみられたことから、シクロデキストリン誘導体による細胞内のスフィンゴ脂質類の減少は、シクロデキストリン誘導体のリン脂質類への直接的な作用だけではないことが示唆された。また、我々の過去の細胞および動物実験で NPC 病態改善効果を見出した HPGCD は、HPBCD と同様の効果を有することが示唆された。

HPBCD は確かに NPC 治療効果を有することが示されたが、NPC 患者における人道的使用ならびに臨床試験において、肺障害や聴覚障害などの有害反応が問題になっている。そこで、HPBCD よりも安全性、さらには有効性に優れる新規治療薬を探索する目的で、我々の有する化合物ライブラリを用いて比較検討を行った。その結果、いくつかの化合物が見出された。そのうちの 1 つである G2BCD の NPC に対する薬剤候補としての可能性を評価した。G2BCD は水溶液中で比較的低い粘性と表面活性を示し、注射剤の開発に適した特性を有していた。G2GCD は、*Npc1* null CHO 細胞において、細胞間コレステロール輸送およびリソゾーム障害を濃度依存的に抑制した。G2BCD (2.9 mmol/kg) を週 1 回皮下注射すると、NPC モデルマウスのコレステロール代謝異常、肝細胞腫大、血清トランスアミナーゼ上昇が改善された。また、G2BCD (21.4  $\mu$ mol/kg) を脳静脈内に単回投与したところ、モデルマウスでは小脳のプルキンエ細胞減少、体重減少、運動機能障害が抑制された。以上のことから、HPBCD に代わる NPC 治療薬として最適な薬剤開発の可能性が示唆され、さらなる最適化合物探索の試験を行い、2

種類の化合物を見出した。これらの化合物について、現在、特許取得および出願中であり、今後さらなる検証を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

|  |                   |
|--|-------------------|
| 1. 著者名<br>Hoque Sanzana, Kondo Yuki, Sakata Nodoka, Yamada Yusei, Fukaura Madoka, Higashi Taishi, Motoyama Keiichi, Arima Hidetoshi, Higaki Katsumi, Hayashi Akio, Komiya Takaki, Ishitsuka Yoichi, Irie Tetsumi | 4. 巻<br>21        |
| 2. 論文標題<br>Differential Effects of 2-Hydroxypropyl-Cyclodextrins on Lipid Accumulation in Npc1-Null Cells  | 5. 発行年<br>2020年   |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Molecular Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>898 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.3390/ijms21030898">https://doi.org/10.3390/ijms21030898</a>  | 査読の有無<br>有        |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている(また、その予定である)  | 国際共著<br>-         |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>石塚洋一, 山田侑世, 近藤悠希, 入江徹美                  | 4. 巻<br>12            |
| 2. 論文標題<br>シクロデキストリン誘導体を利用した ニーマン・ピック病C 型治療薬の開発研究 | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>粉体技術                                    | 6. 最初と最後の頁<br>212-216 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                    | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難            | 国際共著<br>-             |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Maeda Yuki, Motoyama Keiichi, Nishiyama Rena, Higashi Taishi, Onodera Risako, Nakamura Hideaki, Takeo Toru, Nakagata Naomi, Yamada Yusei, Ishitsuka Yoichi, Kondo Yuki, Irie Tetsumi, Era Takumi, Arima Hidetoshi | 4. 巻<br>9               |
| 2. 論文標題<br>In vivo Efficacy and Safety Evaluation of Lactosyl- $\alpha$ -cyclodextrin as a Therapeutic Agent for Hepatomegaly in Niemann-Pick Type C Disease  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Nanomaterials   | 6. 最初と最後の頁<br>802 ~ 802 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.3390/nano9050802">https://doi.org/10.3390/nano9050802</a>   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている(また、その予定である)   | 国際共著<br>-               |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Yasmin N, Ishitsuka Y, Fukaura M, Yamada Y, Nakahara S, Ishii A, Kondo Y, Takeo T, Nakagata N, Motoyama K, Higashi T, Okada Y, Nishikawa J, Ichikawa A, Iohara D, Hirayama F, Higaki K, Ohno K, Matsuo M, Irie T. | 4. 巻<br>20(5)       |
| 2. 論文標題<br>In Vitro and In Vivo Evaluation of 6-O- $\alpha$ -Maltosyl- $\alpha$ -Cyclodextrin as a Potential Therapeutic Agent Against Niemann-Pick Disease Type C  | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>International journal of molecular sciences   | 6. 最初と最後の頁<br>E1152 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.3390/ijms20051152">https://doi.org/10.3390/ijms20051152</a>   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている(また、その予定である)   | 国際共著<br>-           |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Okada Y, Ueda E, Kondo Y, Ishitsuka Y, Irie T, Higashi T, Motoyama K, Arima H, Matuso M, Higaki K, Ohno K, Nishikawa J, Ichikawa A          | 4. 巻<br>455         |
| 2. 論文標題<br>Role of 6-O- $\alpha$ -maltosyl- $\beta$ -cyclodextrin in lysosomal cholesterol deprivation in Npc1-deficient Chinese hamster ovary cells. | 5. 発行年<br>2018年     |
| 3. 雑誌名<br>Carbohydrate research   | 6. 最初と最後の頁<br>54-61 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.carres.2017.11.003.   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-           |

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>山田侑世, 石塚洋一, 近藤悠希, 入江徹美  |
| 2. 発表標題<br>先天性脂質代謝異常症ニーマン・ピック病 C 型に対する新規治療薬候補の臨床適用に向けた有効性・安全性評価およびその機構論的解析 |
| 3. 学会等名<br>第11回トランスポーター研究会九州部会 (招待講演)                                      |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>難波七海, 柚木崎美織, 石塚洋一, 近藤悠希, 竹尾透, 中瀬直己, 江良拓実, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick 病 C 型患者に対するアセトアミノフェン使用の肝障害リスク評価を目的とした基礎的検討         |
| 3. 学会等名<br>第11回トランスポーター研究会九州部会   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>山田侑世, 石塚洋一, 近藤悠希, 入江徹美  |
| 2. 発表標題<br>先天性脂質代謝異常症ニーマン・ピック病 C 型に対する新規治療薬候補の臨床適用に向けた有効性・安全性評価およびその機構論的解析 |
| 3. 学会等名<br>第 43 回西日本薬剤学研究会   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>石塚洋一, 近藤悠希, 入江徹美   |
| 2. 発表標題<br>先天脂質代謝異常症Niemann-Pick病C型を克服するために、薬剤師(薬学研究者)としてどう向き合うべきか? |
| 3. 学会等名<br>第29回日本医療薬学会年会(招待講演)                                      |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>坂田 和、Sanzana Hoque、近藤悠希、山田侑世、山縣美月、松本彩加、石塚洋一、東 大志、本山敬一、有馬英俊、檜垣克美、林 昭夫、小宮貴樹、入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick病C型モデル細胞における脂質転送・代謝異常に及ぼす各種シクロデキストリン誘導体の影響                         |
| 3. 学会等名<br>第35回日本薬学会九州支部大会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>仲原 周一、山田 侑世、石塚 洋一、近藤 悠希、本山 敬一、東 大志、有馬 英俊、林野 裕至、杉田 昌岳、菊池 武司、平田 文男、松尾宗明、檜垣 克美、大野 耕策、松本 志郎、江良 択実、入江 徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick病C型治療薬候補としてのシクロデキストリンとコレステロールの分子間相互作用の検討  |
| 3. 学会等名<br>第35回日本薬学会九州支部大会   |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>牛濱直樹、深浦まど香、白川聖一、石塚洋一、近藤悠希、竹尾 透、中瀧直己、江良択実、東 大志、本山敬一、有馬英俊、倉内祐樹、香月博志、松尾宗明、檜垣克美、入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick病C型モデルマウスにおける2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin脳室内投与時のGpnmbの変動   |
| 3. 学会等名<br>第35回日本薬学会九州支部大会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |



|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>深浦まど香, 石塚洋一, 近藤悠希, 牛濱直樹, 竹尾 透, 中潟直己, 江良沢実, 東 大志, 本山敬一, 有馬英俊, 倉内祐樹, 香月博志, 亀井峻輔, 首藤剛, 甲斐広文, 松尾宗明, 崎山快夫, 榊原崇文, 檜垣克美, 大野耕策, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>ニーマンピック病C型の治療薬開発を目指したトランスレーショナル循環研究  |
| 3. 学会等名<br>第13回トランスポーター研究会年会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Nushrat Yasmin, Yoichi Ishitsuka, Yusei Yamada, Madoka Fukaura, Shuichi Nakahara, Yuki Kondo, Toru Takeo, Naomi Nakagata, Taishi Higashi, Keiichi Motoyama, Hidetoshi Arima, Yasuyo Okada, Junichi Nishikawa, Atsushi Ichikawa, Katsumi Higaki, Kousaku Ohno, Muneaki Matsuo, Tetsumi Irie |
| 2. 発表標題<br>Effect of maltosyl- $\alpha$ -cyclodextrin on in vitro and in vivo models of Niemann Pick disease type C   |
| 3. 学会等名<br>18th World Congress of basic and clinical pharmacology (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Madoka Fukaura, Yoichi Ishitsuka, Yuki Kondo, Naoki Ushihama, Toru Takeo, Naomi Nakagata, Takumi Era, Taishi Higashi, Keiichi Motoyama, Hidetoshi Arima, Yuki Kurauchi, Hiroshi Katsuki, Shunsuke Kamei, Tsuyoshi Shuto, Hirofumi Kai, Katsumi Higaki, Yoshio Sakiyama, Takafumi Sakakibara, Muneaki Matsuo, Tetsumi Irie |
| 2. 発表標題<br>Intracerebroventricular 2-hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin improves not only neurological symptoms but also hepatic abnormalities in Niemann-Pick disease type C model mice and patients   |
| 3. 学会等名<br>18th World Congress of basic and clinical pharmacology (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>深浦まど香, 石塚洋一, 近藤悠希, 牛濱直樹, 竹尾 透, 中潟直己, 江良沢実, 東 大志, 本山敬一, 有馬英俊, 倉内祐樹, 香月博志, 亀井峻輔, 首藤剛, 甲斐広文, 松尾宗明, 崎山快夫, 榊原崇文, 檜垣克美, 大野耕策, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick病C型における2-hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin療法の最適化へ向けたトランスレーショナル循環研究   |
| 3. 学会等名<br>医療薬学フォーラム2018・第26回クリニカルファーマシーシンポジウム (招待講演)   |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yusei Yamada, Yoichi Ishitsuka, Shuichi Nakahara, Yuki Kondo, Toru Takeo, Naomi Nakagata, Takumi Era, Taishi Higashi, Keiichi Motoyama, Hidetoshi Arima, Shunsuke Kamei, Tsuyoshi Shuto, Hirofumi Kai, Yuji Hayashino, Masatake Sugita, Takeshi Kikuchi, Fumio Hirata, Muneaki Matsuo, Katsumi Higaki, Tetsumi Irie |
| 2. 発表標題<br>Pre-clinical efficacy and safety of HP- $\beta$ -CD as a novel therapeutic drug candidate for Niemann-Pick disease type C and its mechanistic analyses  |
| 3. 学会等名<br>The 19th International Cyclodextrin Symposium (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>松本彩加, 近藤悠希, 山縣美月, 坂田和, 石塚洋一, 岡田安代, 西川淳一, 市川厚, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 檜垣克美, 入江徹美        |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick 病 C 型モデル細胞のコレステロール動態異常に対する2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrinの影響 |
| 3. 学会等名<br>第34回日本薬学会九州支部大会  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>山下航, 石塚洋一, 山田侑世, 難波七海, 近藤悠希, 竹尾透, 中瀧直己, 江良沢実, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 松尾宗明, 檜垣克美, 大野耕策, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick 病 C 型治療薬候補としてHydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrinsの肺障害性に関する基礎的検討         |
| 3. 学会等名<br>第34回日本薬学会九州支部大会   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>深浦まど香, 石塚洋一, 近藤悠希, 牛濱直樹, 竹尾透, 中瀧直己, 江良沢実, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 倉内祐樹, 香月博志, 亀井峻輔, 首藤剛, 甲斐広文, 松尾宗明, 崎山快夫, 榎原崇文, 檜垣克美, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick 病 C 型における2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin療法の最適化へ向けたトランスレーショナル循環研究                                 |
| 3. 学会等名<br>第70回日本薬理学会西南部会   |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>石塚洋一, 深浦まど香, 近藤悠希, 竹尾 透, 中瀧直己, 江良 択実, 東 大志, 本山敬一, 有馬英俊, 倉内祐樹, 香月博志, 亀井竣輔, 首藤剛, 甲斐広文, 松尾宗明, 檜垣克美, 大野耕策, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>先天代謝異常症ニーマンピック病C型に対する 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin脳室内投与療法   |
| 3. 学会等名<br>第27回日本医療薬学会年会   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>石塚洋一, 山田侑世, 深浦まど香, 近藤悠希, 東 大志, 本山敬一, 有馬英俊, 倉内祐樹, 香月博志, 亀井竣輔, 首藤剛, 甲斐広文, 竹尾 透, 中瀧直己, 江良 択実, 岡田安代, 西川淳一, 市川 厚, 林野裕至, 杉田昌岳, 菊池武司, 平田文男, 檜垣克美, 大野耕策, 松尾宗明, 入江徹美 |
| 2. 発表標題<br>先天代謝異常症 Niemann-Pick 病 C 型の新規治療法確立を目指した Full-cycle Translational Research   |
| 3. 学会等名<br>第34回シクロデキストリンシンポジウム (招待講演)  |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>山田 侑世, 石塚 洋一, 仲原 周一, 近藤 悠希, 竹尾 透, 中瀧 直己, 江良 択実, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 亀井 竣輔, 首藤剛, 甲斐 広文, 林野 裕至, 杉田 昌岳, 菊池 武司, 平田 文男, 松尾 宗明, 檜垣 克美, 大野 耕策, 入江 徹美 |
| 2. 発表標題<br>先天性脂質代謝異常症ニーマン・ピック病C型に対する新規治療薬候補の臨床適用に向けた 有効性・安全性評価およびその機構論的解析  |
| 3. 学会等名<br>生体機能と創薬シンポジウム2017   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>石塚洋一                                       |
| 2. 発表標題<br>先天性脂質代謝異常症ニーマンピック病C型における創薬・育薬研究            |
| 3. 学会等名<br>医療薬学フォーラム2017・第25回クリニカルファーマシーシンポジウム (招待講演) |
| 4. 発表年<br>2017年                                       |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>上田恵梨香, 岡田安代, 近藤悠希, 石塚洋一, 入江徹美, 東 大志, 本山敬一, 有馬英俊, 松尾宗明, 檜垣克美, 大野耕策, 市川 厚, 西川 淳一               |
| 2. 発表標題<br>Niemann-Pick 病Type Cの病態モデル、Npc1欠損細胞の6-0-a-maltosyl- cyclodextrinによるコレステロールとコレステロールエステルのレベル変化 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第137年会  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

|                                      |                         |               |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称<br>ライソゾーム病の治療または予防のための医薬組成物 | 発明者<br>石塚洋一、山田侑世、入江徹美ほか | 権利者<br>同左     |
| 産業財産権の種類、番号<br>特許、2019-77255         | 出願年<br>2019年            | 国内・外国の別<br>国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                        | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                        | 備考            |
|-------|--|--|---------------|
| 研究分担者 | 松尾 宗明<br><br>(Matsuo Muneaki)<br><br>(20219398)  | 佐賀大学・医学部・教授<br><br><br><br>(17201)           |               |
| 研究分担者 | 中瀧 直己<br><br>(Nakagata Naomi)<br><br>(30159058)  | 熊本大学・生命資源研究・支援センター・教授<br><br><br><br>(17401) |               |
| 研究分担者 | 有馬 英俊<br><br>(Arima Hidetoshi)<br><br>(50260964) | 熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・教授<br><br><br><br>(17401) | 削除：2019年2月26日 |