

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15316

研究課題名（和文）ニーマン・ピック病C型の臨床課題を克服する次世代型コレステロール輸送療法の構築

研究課題名（英文）Development of next-generation cholesterol transport therapy to overcome the clinical challenges of Niemann-Pick disease type C

研究代表者

山田 侑世（Yamada, Yusei）

宮崎大学・医学部・薬剤師

研究者番号：90898107

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ニーマン・ピック病C型（NPC）に対するシクロデキストリン（CD）療法で生じている臨床課題を克服する新たなCD誘導体の構築を試みた。NPCに対する治療効果の発現ならびに聴覚毒性の回避を達成しうるCDの構造特性について得られた知見をもとに新たに構築したCD誘導体は、モデルマウスに対する延命効果を発揮しつつ聴覚毒性をほとんど示さなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果により、CDがコレステロールに対して発揮する輸送と可溶化の性質に影響する因子が理解され、CDによる細胞内コレステロール輸送の正常化機構が提案された。また、本研究で見出した新たなCD誘導体を基盤に分子構造を最適化し臨床適応することで、NPC治療における有効性の頭打ちや聴覚障害といった重大な臨床課題が克服できる可能性がある。さらに、NPCに限らず、CD医薬品化の障壁であったコレステロールとの相互作用による有害事象発現を、分子構造的に制御することで、医薬品化が加速する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a novel cyclodextrin (CD) derivative to overcome the clinical challenges associated with CD therapy for Niemann-Pick disease type C (NPC). Based on the insights gained into the structural characteristics of CDs that can achieve therapeutic effect for NPC and avoid ototoxicity, the newly constructed CD derivative showed an extension of lifespan in a model mouse while exhibiting negligible ototoxicity.

研究分野：医療薬学

キーワード：ニーマン・ピック病C型 ライソゾーム病 シクロデキストリン コレステロール 分子間相互作用

## 1. 研究開始当初の背景

ニーマン・ピック病 C 型 (NPC) は、“小児のアルツハイマー病”とも称され、小児・新生児期にアルツハイマー病に類似した重篤かつ進行性の中枢神経障害を呈する遺伝性の難病である。NPC では、リソソーム内でコレステロール輸送を担う膜蛋白質 NPC1 や可溶性蛋白質 NPC2 の遺伝的な機能不全により、細胞内コレステロール輸送が破綻する。現在、環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (CD) の誘導体で、コレステロールを強力に可溶化する 2-hydroxypropyl- $\beta$ -CD (HP- $\beta$ -CD) の静脈内点滴および髄腔内投与療法による国際共同治験が展開されている。一方、HP- $\beta$ -CD 療法には重大な臨床課題がある。第一の課題は、治療効果の不十分さであり、実際に、その治療効果は病態の進行遅延に留まっている。第二の課題は、不可避の聴覚障害であり、米国立衛生研究所を主導とする臨床試験の全症例において難聴が出現し、“deaf or death (失聴か死か)”と報道されるほど、医療現場において重大な問題となっている。

我々は、これら臨床課題の克服に向け、薬物動態および薬力学的視点から、CD によるコレステロール輸送療法の改革を試みてきた (Tanaka & Yamada, *Biol Pharm Bull*, 2015)。その過程で、環構造中グルコースが HP- $\beta$ -CD より 1 分子多く、コレステロールを可溶化しないと想定されてきた 2-hydroxypropyl- $\gamma$ -CD (HP- $\gamma$ -CD) にも、NPC 治療効果があることを発見した。また、溶解度解析ならびに分子動力学シミュレーションの結果、HP- $\gamma$ -CD は HP- $\beta$ -CD と異なるコレステロールとの複合体形成様式をとることを見出した。さらに、NPC 病態モデルマウスに対するそれら CD の治療効果は同等であったものの、生体適合性は HP- $\gamma$ -CD で非常に高かった。以上から、CD-コレステロールにおける複合体形成様式が、有効性発現および毒性発現に影響を与えている可能性が高いと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、NPC に対して高い治療効果を発揮し、聴覚毒性を回避する CD 誘導体の開発を基盤として、現状の臨床課題を克服する次世代型コレステロール輸送療法の構築を目的とする。

## 3. 研究の方法

### CD-コレステロールの複合体形成様式と NPC に対する有効性・聴覚毒性発現の関連

CD のもつ環状構造の内径や置換基の異なる誘導体ライブラリーをもとに、齧歯類および患児由来の NPC 病態モデル細胞・マウス蝸牛由来の聴覚モデル細胞を用いて、細胞病変を改善するとともに聴覚細胞毒性の低い誘導体をスクリーニングした。選抜された CD 誘導体とコレステロールとの相互作用様式を、溶解度解析ならびに分子ドッキングシミュレーションにより推定するとともに各解析手法から得られた結果の妥当性を評価した。

### 構造活性相関解析による最適化された CD 分子構造の推定と応用可能性評価

バーチャルシミュレーションソフトウェアを用いた仮想環境下にて、置換基の異なる複数の CD 誘導体を構築し、分子ドッキングシミュレーションによりコレステロールとの複合体形成様式およびその結合自由エネルギーを評価した。また、得られた結果をもとに、治療効果の向上と聴覚毒性の回避を達成する理想的な CD 誘導体の分子構造を推定・構築し、NPC 病態モデルマウスに脳室内投与することで、その応用可能性を評価した。

## 4. 研究成果

### CD-コレステロールの複合体形成様式と NPC に対する有効性・聴覚毒性発現の関連

モデル細胞を用いた CD 誘導体のスクリーニングにより、置換基の異なる  $\beta$ -CD 誘導体および  $\gamma$ -CD 誘導体が各 4 種類、合計 8 種類の候補化合物が選抜された。それらを用いた溶解度解析ならびに分子ドッキングシミュレーションから、環状七糖体である  $\beta$ -CD 誘導体は、コレステロー

ルとモル比 1:1 および 2:1 複合体を形成し、二次曲線的なコレステロール溶解度を示した。一方で、環状八糖体である  $\gamma$ -CD 誘導体は、1:1 複合体のみを形成し、線形性の溶解度を示した。さらに、各解析手法で得られた複合体の結合定数および結合自由エネルギーが有意に相関したことから、各手法による複合体の安定性の推定が妥当であることが確認された。また、各 CD 誘導体の 1:1 複合体の安定性は、NPC 病態モデル細胞で破綻した細胞内コレステロール輸送に対する改善効果と相関し、2:1 複合体の安定性は、細胞からのコレステロール抽出に伴う細胞毒性と相関した(図1)。従って、1:1 および 2:1 複合体の安定性は、それぞれコレステロールの輸送および可溶化に寄与することで、有効性や細胞毒性発現を制御することが示唆された。

実際に、HP- $\beta$ -CD よりも 1:1 複合体の安定性が高い誘導体では、*Npc1* 遺伝子欠損マウスに対する延命効果が高かった(図2)。また各 CD を全身投与した場合、 $\gamma$ -CD 誘導体は  $\beta$ -CD 誘導体に比べて、各主要な末梢臓器や聴覚機能に対する高い生体適合性を示した。一方で、脳室内投与した場合、治療効果をもつ全ての誘導体で難聴が誘発された。

#### 構造活性相関解析による最適化された CD 分子構造の推定と応用可能性評価

上述の研究過程においてネガティブコントロールとして用いた環状六糖体の  $\alpha$ -CD 誘導体は、予想通りコレステロールと複合体を形成せず可溶化能を示さなかった。また、注目すべきことに、NPC に対する治療効果を持たず、聴覚毒性も示さなかった。この結果を基盤に、聴覚毒性を回避し得る新たな CD 誘導体の分子構造を推定した。仮想環境において、置換基の異なる複数の CD 誘導体を生成し、コレステロールとの複合体形成様式およびその結合自由エネルギーを予測したところ、既存の CD 誘導体と比較して理想的な複合体様式をとる CD 誘導体“X-CD”が見出された。実際に、この“X-CD”を構築し、*Npc1* 遺伝子欠損マウスに脳室内投与したところ、治療効果を発揮する一方で、聴覚毒性はほとんど示さなかった(図3)。

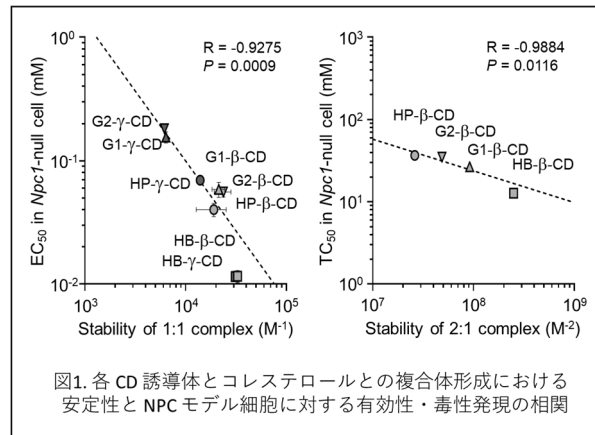


図1. 各 CD 誘導体とコレステロールとの複合体形成における安定性と NPC モデル細胞に対する有効性・毒性発現の相関

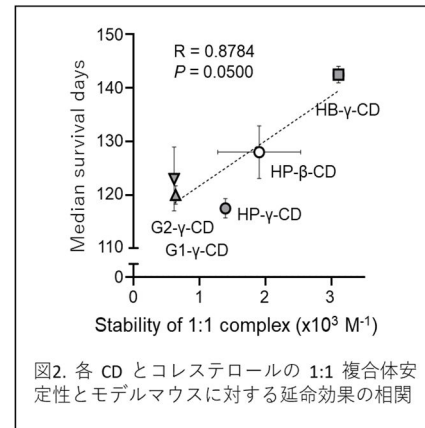


図2. 各 CD とコレステロールの 1:1 複合体安定性とモデルマウスに対する延命効果の相関

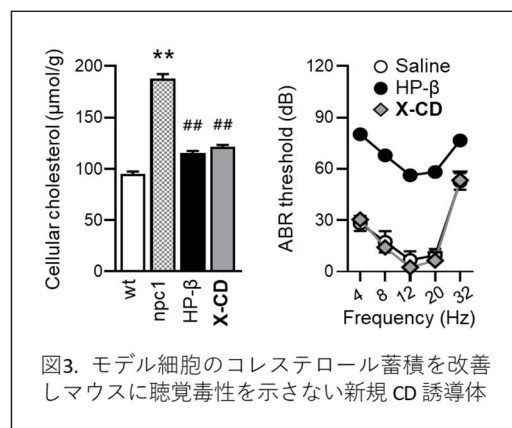


図3. モデル細胞のコレステロール蓄積を改善しマウスに聴覚毒性を示さない新規 CD 誘導体

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 Yoshikawa Naoki, Yamada Ai, Yokota Tsubasa, Yamada Yusei, Kinoshita Mariko, Moritake Hiroshi, Ikeda Ryuji	4. 巻 13
2. 論文標題 Development and Validation of an HPLC Method for Analysis of Topotecan in Human Cerebrospinal Fluid and Its Application in Elimination Evaluation of Topotecan after Intraventricular Injection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4643 ~ 4643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13184643	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Yamada Yusei	4. 巻 13
2. 論文標題 Different solubilizing ability of cyclodextrin derivatives for cholesterol in Niemann-Pick disease type C treatment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 e1350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ctm2.1350	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Yamada Y, Miwa T, Nakashima M, Shirakawa A, Ishii A, Namba N, Kondo Y, Takeo T, Nakagata N, Motoyama K, Higashi T, Arima H, Kurauchi Y, Seki T, Katsuki H, Okada Y, Ichikawa A, Higaki K, Hayashi K, Minami K, Yoshikawa N, Ikeda R, Ishikawa Y, Kajii T, Tachii K, Takeda H, Orita Y, Matsuo M, Irie T, Ishitsuka Y	4. 巻 155
2. 論文標題 Fine-tuned cholesterol solubilizer, mono-6-O- $\alpha$ -D-maltosyl- $\beta$ -cyclodextrin, ameliorates experimental Niemann-Pick disease type C without hearing loss	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 113698 ~ 113698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2022.113698	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Yamada Yusei et al.	4. 巻 178
2. 論文標題 Differential mode of cholesterol inclusion with 2-hydroxypropyl cyclodextrins increases safety margin in treatment of Niemann-Pick disease type C	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 British Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 2727 ~ 2746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bph.15464	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 白川愛奈, 山田侑世, 近藤悠希, 西山麻美, 河田達哉, 三輪徹, 竹田大樹, 折田頼尚, 竹尾透, 中潟直己, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 関貴弘, 倉内祐樹, 香月博志, 池田龍二, 檜垣克美, 松尾宗明, 入江徹美, 石塚洋一
2. 発表標題 Niemann-Pick病C型治療における2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin脳室内投与療法の有効性および聴覚毒性評価を企図した逆向き橋渡し研究
3. 学会等名 第39回 日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白川 愛奈, 山田 侑世, 近藤 悠希, 西山 麻美, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 竹尾 透, 中潟 直己, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 倉内 祐樹, 香月 博志, 檜垣 克美, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題 Niemann-Pick病C型治療における2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin脳室内投与療法の有効性および聴覚毒性評価を企図した逆向き橋渡し研究
3. 学会等名 第16回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川直樹, 横田翼, 松尾彩子, 山田侑世, 岩切智美, 池田龍二
2. 発表標題 タクロリムスの赤血球への分布におけるFK506結合タンパク質の役割
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂井太一, 石井亮良, 白川愛奈, 田中万祐子, 池田優生, 近藤悠希, 山田侑世, 三輪徹, 竹田大樹, 折田頼尚, 竹尾透, 中潟直己, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 関貴弘, 倉内祐樹, 香月博志, 池田龍二, 檜垣克美, 松尾宗明, 入江徹美, 石塚洋一
2. 発表標題 聴覚毒性フリーな新規シクロデキストリン誘導体を用いたNiemann-Pick病C型治療法の探索
3. 学会等名 第40回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名	山田 侑世, 西澤 まど香, 西山 麻美, 石井 亮良, 白川 愛奈, 近藤 悠希, 竹尾 透, 中潟 直己, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 関 貴弘, 倉内 祐樹, 香月 博志, 檜垣 克美, 南 謙太郎, 吉川 直樹, 池田 龍二, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題	先天性脂質異常症ニーマン・ピック病C型に対する安全なコレステロール輸送療法の構築を目指したトランスレーショナル・サイクル
3. 学会等名	第33回医療薬学会年会
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	佐藤 ありす, 吉川直樹, 松崎 裕紀, 是枝 秀彦, 山田 侑世, 保田 和哉, 平原 康寿, 池田 龍二
2. 発表標題	バンコマイシン投与患者のAUC推定においてピーク血中濃度測定を必要とする背景因子の解析
3. 学会等名	第33回医療薬学会年会
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	山田 侑世, 近藤 悠希, 竹尾 透, 中潟 直己, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 倉内 祐樹, 香月 博志, 檜垣 克美, 池田 龍二, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題	ニーマン・ピック病C型に対する分子間結合解析に基づいた第三世代型コレステロール輸送療法の開発
3. 学会等名	第17回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	山田 侑世, 西澤 まど香, 西山 麻美, 石井 亮良, 白川 愛奈, 近藤 悠希, 竹尾 透, 中潟 直己, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 関 貴弘, 倉内 祐樹, 香月 博志, 檜垣 克美, 南 謙太郎, 吉川 直樹, 池田 龍二, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題	先天性代謝異常症ニーマン・ピック病C型に対する分子間相互作用解析に基づいた安全なコレステロール輸送療法の構築
3. 学会等名	第7回黒潮カンファレンス
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	山田 侑世, 西澤 まど香, 西山 麻美, 石井 亮良, 河田 達哉, 白川 愛奈, 中島 将貴, 近藤 悠希, 竹尾 透, 中瀧 直己, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 関 貴弘, 倉内 祐樹, 香月 博志, 檜垣 克美, 南 謙太郎, 吉川 直樹, 池田 龍二, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題	化学量論に基づいたシクロデキストリンの shuttle - sink機能制御によるニーマン・ピック病C型治療の最適化
3. 学会等名	日本薬学会第143年会
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	吉川 直樹, 山田 愛, 山田 侑世, 新地 瑠海, 木下 真理子, 盛武 浩, 池田 龍二
2. 発表標題	脳脊髄液中topotecan濃度のHPLC分析法構築と髄腔内薬物投与後の排泄評価への応用
3. 学会等名	日本薬学会第143年会
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	Yusei Yamada
2. 発表標題	Drug development for Niemann-Pick disease Type C: a mechanistic approach to optimize drug-cholesterol interaction
3. 学会等名	The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Pharmaceutical Health Care and Sciences (招待講演)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	田中 万祐子, 山田 侑世, 坂井 太一, 白川 愛奈, 近藤 悠希, 本山 敬一, 東 大志, 有馬 英俊, 倉内 祐樹, 関 貴弘, 香月 博志, 岡田 安代, 檜垣 克美, 池田 龍二, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題	新規 Niemann-Pick 病 C 型治療薬候補マルチシル- シクロデキストリンの 聴覚毒性評価
3. 学会等名	フォーラム2022 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 白川愛奈、山田侑世、近藤悠希、西山麻美、三輪徹、竹田大樹、折田頼尚、竹尾透、中瀧直己、東大志、本山敬一、有馬英俊、倉内祐樹、関貴弘、香月博志、池田龍二、檜垣克美、松尾宗明、入江徹美、石塚洋一
2. 発表標題 Niemann-Pick病C型治療における2-hydroxypropyl-β-cyclodextrinの聴覚障害回避を目的とした至適投与条件の検討
3. 学会等名 第74回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井 亮良, 片山 莉乃, 近藤 悠希, 山田 侑世, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 檜垣 克美, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題 Niemann-Pick病C型治療薬候補としての2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin の有効性と安全性に対する置換度の影響
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河田 達哉, 西澤 まど香, 近藤 悠希, 山田 侑世, 竹尾 透, 中瀧 直己, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 関 貴弘, 太田 智子, 倉内 祐樹, 香月 博志, 亀井 峻輔, 首藤 剛, 甲斐 広文, 伊藤 慎悟, 緒方 星陵, 大槻 純男, 檜垣 克美, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題 Niemann-Pick病C型における2-hydroxypropyl-β-cyclodextrinの脳-肝連関の作用点の探索
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 難波 七海, 柚木崎 美織, 近藤 悠希, 山田 侑世, 竹尾 透, 中瀧 直己, 江良 択実, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 関 貴弘, 倉内 祐樹, 香月 博志, 松尾 宗明, 檜垣 克美, 入江 徹美, 石塚 洋一
2. 発表標題 Niemann Pick 病 C 型患者にアセトアミノフェンを使用する際の肝障害リスクに関する基礎的検討
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2021
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 白川 愛奈, 山田 侑世, 近藤 悠希, 西山 麻美, 三輪 徹, 竹田 大樹, 折田 頼尚, 竹尾 透, 中潟 直己, 東 大志, 本山 敬一, 有馬 英俊, 倉内 祐樹, 関 貴弘, 香月 博志, 池田 龍二, 檜垣 克美, 松尾 宗明, 入江 徹美, 石塚洋一
2. 発表標題 Niemann-Pick病C型治療における2-hydroxypropyl-β-cyclodextrinの聴覚障害回避を目的とした至適投与条件の検討
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2021
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

宮崎大学医学部附属病院薬剤部 <a href="http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/home/yakuzai/researchmap">http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/home/yakuzai/researchmap</a> <a href="https://researchmap.jp/yusei_yamada">https://researchmap.jp/yusei_yamada</a>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------