

2014/5021B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業）

中性脂肪蓄積心筋血管症に対する
中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発

平成 24－26 年度総合研究報告書

研究代表者 平野賢一

平成 27 年 (2015 年) 3 月

目 次

I.	平成 24～26 年度 研究班員名簿	1
II.	総合研究報告書 中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発 平野 賢一	5
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	27
IV.	添付資料	39

〔 I 〕

平成 24—26 年度研究班名簿

平成24年度 中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発班（重点研究分野）

区 分	氏 名	所 属 等	職名
研 究 代 表 者	平野 賢一	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	助教
研 究 分 担 者	植田 初江	独立行政法人国立循環器病研究センター病理部	部長
	裏出 良博	大阪バイオサイエンス研究所第2研究部分子行動生物学部門	研究部長
	恵 淑萍	北海道大学大学院保健科学研究院	准教授
	間賀田 泰寛	浜松医科大学メディカルフォトリクス研究センター	教授
	橋本 守	大阪大学大学院基礎工学研究科	准教授
	千葉 俊明	琉球大学大学院医学研究科 細胞病理学	准教授
	瀬川 波子	福岡大学医学部	准教授
	財満 信宏	近畿大学農学部応用生命化学科	講師
	高木 敦子	国立循環器病研究センター 分子薬理部	室長
	谷本 昭英	鹿児島大学医学部 分子細胞病理学	教授
	土井 健史	大阪大学大学院薬学研究科	教授
	加藤 良仁	興和株式会社 製品戦略部	課長
研 究 協 力 者	青山 敏明	日清オイリオグループ株式会社	執行役員
	池田 善彦	独立行政法人国立循環器病研究センター病理部	医長
	千葉 仁志	北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学講座	教授
	塚本 幸資	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
	鈴木 朗	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
	長坂 博範	宝塚市立病院 小児科	部長
	山口 知是	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
事 務 局	野村 千秋	大阪大学バイオ関連多目的研究施設 平野研究室 〒565-0874 大阪府吹田市古江台6-2-3 T E L 06-6872-8215 F A X 06-6872-8219 e-mail office@cnt-osaka.com	秘書
経 理 事 務 担 当 者	川上 政博	大阪大学大学院医学系研究科 研究支援室研究連携係 T E L 06-6879-3075 F A X 06-6879-3070 e-mail i-kenkyurenkei@office.osaka-u.ac.jp	係長

平成25年度 中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発班（重点研究分野）

区 分	氏 名	所 属 等	職名
研究代表者	平野 賢一	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	助教
研究分担者	植田 初江	独立行政法人国立循環器病研究センター病理部	部長
	青江 秀史	大阪大学 知的財産センター	センター長
	南都 伸介	大阪大学先進心血管治療学	教授
	内藤 博昭	国立循環器病研究センター 病院	病院長
	裏出 良博	大阪バイオサイエンス研究所第2研究部分子行動生物学部門	研究部長
	恵 淑萍	北海道大学大学院保健科学研究院	准教授
	小林 邦久	福岡大学医学部筑紫病院	教授
	間賀田 泰寛	浜松医科大学メディカルフォトンクス研究センター	教授
	橋本 守	大阪大学大学院基礎工学研究科	准教授
	長澤 康行	兵庫医科大学 腎臓内科	講師
	羽尾 裕之	兵庫医科大学 病理学	准教授
	小谷 順一	大阪大学 循環器内科	講師
	瀬川 波子	福岡大学医学部	准教授
	財満 信宏	近畿大学農学部応用生命化学科	講師
	杉村 宏一郎	東北大学大学院 循環器内科	院内講師
	高木 敦子	国立循環器病研究センター 分子薬理部	室長
	中村 浩士	山口大学 地域医療推進学	准教授
	山田 壮亮	産業医科大学 細胞病理学	講師
	谷本 昭英	鹿児島大学医学部 分子細胞病理学	教授
	安井 洋子	大阪市立大学大学院生活科学研究科	准教授
千葉 俊明	琉球大学医学部	准教授	
田嶋 祥子	興和株式会社 製品戦略部		
研究協力者	青山 敏明	日清オイリオグループ株式会社	執行役員
	黒田 宙	東北大学病院 神経内科	助教
	池田 善彦	国立循環器病研究センター病理部	医長
	川口 克廣	小牧市民病院 循環器科	循環器科部長
	吉田 雅言	大阪大学 先進心血管治療学講座	医員
	千葉 仁志	北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学講座	教授
	藤井 健一	兵庫医科大学 循環器内科	講師
	鈴木 朗	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
	長坂 博範	宝塚市立病院 小児科	部長
	山口 知是	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
	塚本 幸資	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
事務局	石井 麻貴	大阪大学バイオ関連多目的研究施設 平野研究室 〒565-0874 大阪府吹田市古江台6-2-3 T E L 06-6872-8215 F A X 06-6872-8219 e-mail makiishii@cnt-osaka.com	事務補佐員
経理事務担当者	川上 政博	大阪大学大学院医学系研究科 研究支援室研究連携係 T E L 06-6879-3075 F A X 06-6879-3070 e-mail i-kenkyurenkei@office.osaka-u.ac.jp	係長

平成26年度 中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	平野 賢一	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	助教
研究分担者	青江 秀史	大阪大学 知的財産センター	センター長
	稲葉 亨	京都府立医科大学 感染制御・検査医学教室	講師
	植田 初江	国立循環器病研究センター病院 病理部	部長
	江副 幸子	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター	講師
	加藤 良仁	興和創薬株式会社 学術部 大阪学術課	課長
	恵 淑萍	北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学分野	教授
	小澤 純二	大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学	助教
	小谷 順一	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任講師
	小林 邦久	福岡大学筑紫病院 内分泌・糖尿病内科	教授
	財満 信宏	近畿大学農学部 応用生命化学科	講師
	杉村 宏一郎	東北大学大学院医学系研究科 循環器内科学	助教
	瀬川 波子	福岡大学医学部医学科 生化学	准教授
	高木 敦子	国立循環器病研究センター研究所 分子薬理部 構造機能研究室	室長
	田嶋 祥子	興和株式会社 医薬事業部 製品戦略部	
	谷本 昭英	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞病理学	教授
	内藤 博昭	国立循環器病研究センター病院	病院長
	長澤 康行	兵庫医科大学 内科学 腎・透析科	講師
	中村 浩士	山口大学医学部 地域医療推進学講座	准教授
	羽尾 裕之	兵庫医科大学病院 病院病理部	准教授
	橋本 守	大阪大学大学院基礎工学研究科 機能創成専攻 生体工学領域	准教授
間賀田 泰寛	浜松医科大学 メディカルフォトリクス研究センター	教授	
安井 洋子	大阪市立大学大学院 生活科学研究科	准教授	
安野 哲彦	福岡大学医学部 腎臓・膠原病内科	助教	
山田 壮亮	産業医科大学 第2病理学	講師	
研究協力者	青山 敏明	日清オイリオグループ株式会社	執行役員
	池田 善彦	国立循環器病研究センター病院 病理部	医長
	石田 良雄	市立貝塚病院	副院長
	恩田 弘明	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	研究員
	川口 克廣	小牧市民病院 循環器内科	副院長
	川口 博明	鹿児島大学共同獣医学部獣医学科 病態予防獣医学講座	准教授
	黒田 宙	東北大学大学院医学系研究科 神経内科学分野	助教
	小林 俊秀	理化学研究所 小林脂質生物学研究室	主任研究員
	鈴木 朗	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
	須見 友子	近畿大学農学部応用生命化学科 応用細胞生物学研究室	修士2年生
	千葉 仁志	北海道大学大学院保健科学研究院 健康科学分野	教授
	土井 健史	大阪大学大学院薬学研究科 創成薬学専攻	教授
	中谷 大作	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター	特任准教授
	中村 歩	大阪大学医学部附属病院 薬剤部	薬剤主任
	長坂 博範	宝塚市立病院 小児科	部長
	原 康洋	医薬基盤研究所 プロテオームリサーチセンター	特任研究員
	藤井 健一	兵庫医科大学 内科学 循環器内科	講師
	山口 知是	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	特任研究員
	山本 彩実	近畿大学農学部 応用生命化学科 応用細胞生物学研究室	研究支援者
	シノブ ヲゾト	北海道大学大学院保健科学研究院 健康科学分野	特任助教
	吉田 雅言	大阪大学大学院医学系研究科 先進心血管治療学寄附講座	医員
	和田 崇男	大阪大学医学部附属病院 栄養マネジメント部 栄養管理室	調理長
	事務局	石川 麻央 矢部 淑恵	大阪大学バイオ関連多目的研究施設 平野研究室 〒565-0874 大阪府吹田市古江台6丁目2番3号 TEL 06-6872-8215 FAX 06-6872-8215 e-mail lab@cnt-osaka.com
經理事務担当者		垣渕 康之	大阪大学大学院医学系研究科 研究支援室研究連携係 TEL 06-6879-3075 FAX 06-6879-3070 e-mail i-kenkyurenkei@office.osaka-u.ac.jp

〔Ⅱ〕

総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等実用化研究事業(難治性疾患実用化研究事業))
総合研究報告書

中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発

研究代表者 平野賢一 大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学 助教

研究要旨

研究代表者らにより提唱された新規疾患概念である中性脂肪蓄積心筋血管症(Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV)(Hirano K, et al. N Engl J Med, 2008)に対する「中鎖脂肪酸含有医薬品(治験薬コード CNT-01)の開発」が本研究の目的である。TGCVは、細胞内のTG代謝異常の結果、心筋と冠動脈にTGが蓄積、重症心不全、冠動脈疾患を来す。これまでのところ明らかな原発性TGCVの原因は、細胞内TG分解の必須酵素であるadipose triglyceride lipase(ATGL)の遺伝的欠損である。また、ATGL遺伝子に異常を認めない特発性TGCVも存在する。わが国における患者数は、前者が7例(他、疑診例3例)、後者は、我が国において数万人と推定される。研究班では、本症に関する国際シンポジウムを開催、そのレジストリーを構築するなど、グローバル治験も視野に症例数の把握にも務めている。研究班での中鎖脂肪酸を含有する食事療法の経験及び医薬品医療機器総合機構(PMDA)による事前面談、対面助言を基に、CNT-01の規格、服用方法、合成方法、製剤方法を決定した。必要なGLP基準下毒性試験、安全性薬理試験などを実施し、CNT-01の安全性を評価した。代表研究者所属機関附属病院薬剤部に製造設備を構築し、GMP基準下での治験原薬製造を行った。また、これまで6年間の研究班の成果をまとめ、TGCVの診断のてびき(初版)を作成、公開した。First-in-human試験として、特発性TGCVを対象とする第I/IIa相試験を実施するため、その治験実施計画書、患者同意説明文書、治験薬概要書を作成、所属研究機関附属病院において、利益相反委員会、治験審査委員会での承認を経て、治験届を提出、臨床段階(ステップ2)に入った。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

青江 秀史	大阪大学知的財産センター センター長
稲葉 亨	京都府立医科大学感染制御・検査医学教室 講師
植田 初江	国立循環器病研究センター病院病理部 部長
裏出 良博	大阪バイオサイエンス研究所 研究部長

江副 幸子	大阪大学医学部附属病院未来医療センター 講師
加藤 良仁	興和創薬株式会社学術部大阪学術課 課長
恵 淑萍	北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野 教授
小澤 純二	大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学 助教
小谷 順一	大阪大学大学院医学系研究科内科学講座 循環器内科学 特任講師
小林 邦久	福岡大学筑紫病院内分泌・糖尿病内科 教授
財満 信宏	近畿大学農学部応用生命化学科 講師
杉村 宏一郎	東北大学大学院医学系研究科循環器内科学 助教
瀬川 波子	福岡大学医学部医学科生化学 准教授
高木 敦子	国立循環器病研究センター研究所分子薬理部構造機能研究室 室長
田嶋 祥子	興和株式会社医薬事業部製品戦略部
谷本 昭英	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科分子細胞病理学 教授
千葉 俊明	琉球大学大学院医学研究科細胞病理学 准教授
土井 健史	大阪大学大学院薬学研究科生命情報解析学分野 教授
内藤 博昭	国立循環器病研究センター病院 病院長
長澤 康行	兵庫医科大学内科学腎・透析科 講師
中村 浩士	山口大学医学部地域医療推進学講座 准教授
南都 伸介	大阪大学大学院医学系研究科先進心血管治療学 教授
羽尾 裕之	兵庫医科大学病院病理部 准教授
橋本 彰	興和株式会社医薬事業部製品戦略部製品戦略課
橋本 守	大阪大学大学院基礎工学研究科機能創成専攻生体工学領域 准教授
間賀田 泰寛	浜松医科大学メディカルフォトンクス研究センター 教授
安井 洋子	大阪市立大学大学院生活科学研究科 准教授
安野 哲彦	福岡大学医学部腎臓・膠原病内科 助教
山田 壮亮	産業医科大学第2病理学 講師

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症(Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV)は、心筋および冠状動脈に中性脂肪(以下、TG)が蓄積する結果、青年～壮年層において重症心不全、不整脈、冠動脈硬化症を来す、予後の極めて悪い疾患である。原発性TGCVの原因として、細胞内TG分解の必須酵素である adipose triglyceride

lipase (ATGL)の遺伝的欠損が知られており、その病態形成として心筋細胞内TG含量の増加が関与しているものと考えられている。また、本研究班による剖検心の解析から遺伝的原因が未だ明らかでない特発性TGCVも存在する。本研究の目的は、TGCVに対する中鎖脂肪酸を主成分とする医薬品(治験薬コード CNT-01)を開発することである。

B. 研究方法

1) TGCV の病態解析と国内外における実態調査

国内で把握した7例及び疑診例の臨床データ解析、心臓移植の際の摘出心、剖検心の病理解析を行った。各種学会に働きかけ、症例の把握に努めた。患者由来皮膚線維芽細胞を用いたまた、本症に対する国際シンポジウムを開催、レジストリーを構築した(平野、植田、小林、他)。

2) GLP 基準下の毒性試験および安全性薬理試験の実施

ラット、イヌの血漿中濃度測定法バリデーション、ラットおよびイヌ4週間反復投与毒性試験、無麻酔イヌに対する心血管に及ぼす影響、ラットに対する呼吸系、神経系に対する影響、hERG試験、ラット小核試験、復帰突然変異試験、ほ乳類細胞における染色体異常試験、ラット経口投与後の吸収分布排泄試験、ラット胎児発生試験、原薬の品質試験など、非臨床試験を順次実施する(加藤、田嶋)

3) 医師主導治験の実施計画書等の作成、治験審査委員会(IRB)への申請、治験届提出

上記GLP基準下の各種試験成績やPMDAによる対面助言による指示のもと、治験実施計画書、患者同意説明文書、治験薬概要書などを作成し、所属研究機関附属病院において、利益相反委員会、IRBでの承認を経て、治験届を提出する(平野、加藤、田嶋)

4) GMP 基準下での治験原薬製造技術移転

GMP基準下での治験原薬製造は大阪大学医学部附属病院薬剤部にて行うこととし、製造技術を薬剤部内GMP製造施設に技術移転したのち、治験薬原薬製造システムを立ち上げる(平野)

5) 治験原薬GMP製造

大阪大学医学部附属病院薬剤部において、GMP基準下治験原薬の予備製造を行う。(平野)

6) 診断基準の作成、公開

原発性TGCVのスクリーニングに有用と思われる末梢血を用いた簡便な検査法の開発を目指す(稲葉、江副)。冠動脈血管内イメージング検査法や心臓シンチグラム検査(BMIPP)を用いたTGCVの新しい評価方法を開発する(小谷、小林、内藤、羽尾、間賀田)。これら画像診断による検討と同時に病理学的、生理学な検討も行い(植田、小林、財満)、臨床的意義について検討する。これらの研究成果を反映した「TGCV診断基準(初版)」を策定し公開する(平野、小林、中村、長澤)。

7) 末梢血多核白血球の細胞内リパーゼ活性測定系の開発

TGCVの診断及び、治験の際の評価項目の一つとするため、末梢血多核白血球を用いたリパーゼ活性測定系を開発する(高木)。

8) TGCV症例のiPS細胞の確立と解析

症例由来皮膚線維芽細胞を用いて、iPS細胞

胞を作成して、その表現型を解析する。

9) CNT-01 の体内動態、薬効薬理試験
放射性標識脂肪酸誘導体を用いた薬物動態、CNT-01 を用いて野生型マウス、ATGLKO マウスへの薬効薬理について検討する（間賀田、瀬川、平野）

10) 健常人における中鎖脂肪酸濃度の検討

研究協力者 大分大学 臨床薬理センター
今井浩光先生らとともに、健常人における中鎖脂肪酸濃度を検討する（恵）。

11) TGCV 国際登録システムの活用促進

研究班では、昨年度から TGCV および中性脂肪蓄積症 (Neutral lipid storage disease, NLS) の国際的な症例登録システムを構築し、その運用を開始している。今年度はその利用を促進することを目的として、第3回 TGCV/NLS 国際シンポジウムを開催し、各国の研究者との情報共有を行う。（平野）

12) 本研究班における知的財産の整備を行う（青江）。

（倫理面への配慮）

本研究に関与するすべての者は、「世界医師会ヘルシンキ宣言（2008年ソウル修正版）」および「臨床研究に関する倫理指針（平成20年7月31日改訂版）」に従う。

C. 研究結果

1) 本症の分類及び病態（平野、他）

これまでのところ明らかな原発性 TGCV の原因は、ATGL の遺伝的欠損である。わが国では、5 変異、5 家系、計 7 例が把握できた。そのうち、3 例はすでに心臓死。生存 4 例中、2 例は、心臓移植後、1 例は重症心不全であった。心臓病変の表現型としては、拡張型心筋症様、肥大型心筋症様、いずれも表現型も存在した。

原発性 TGCV の病態としては、ATGL の欠損により、細胞内 TG 蓄積が生じる。細胞内の TG 含量が増加するにも関わらず、転写因子 Peroxisome Proliferated Activated Receptor- γ (PPAR γ) の過剰が CD36、FABP4 の過剰発現を誘導して、細胞内への長鎖脂肪酸 (Long chain fatty acid, LCFA) の取り込みが増加して、さらに細胞内 TG が蓄積する (LCFA の悪性サイクル)。

一方、糖尿病剖検心の解析から示唆されていたように、ATGL 遺伝子に異常を認めない特発性の TGCV も存在する。わが国における推定患者数は、数万人と考えられる。

2) 原発性 TGCV の冠動脈病変

原発性 TGCV に認められる冠動脈硬化は、びまん性、求心性であり、通常のコレステロール誘発性動脈硬化が、局所性、偏心性であるとの対称的であった。また、TG 蓄積を来す血管平滑筋細胞が中膜から内膜に浸潤しているなど、ヒトの全く新しい動脈硬化病変を呈した（平野、他）。

3) ATGL 遺伝子変異の集積地域の発見
青森県の遠隔地に、ATGL 遺伝子変異の
集積地域を見出した。同地域では、c.475-
478dupCTCC 変異の頻度が、10.4%であ
った。Taqman probe による解析では、同
変異は、我が国の他地域の健常人 3400 名
には、認められなかった。この地域で同定
したヘテロ接合体 9 例は、現時点では、
non-carrier 43 名とは、明らかな表現型
の差は認められなかった(平野、中村、他)。

4) 治験薬コード CNT-01 の規格、投与
方法の決定

いくつかの予備毒性試験、予備製造の結
果、治験薬の規格、用法を決定した(平野、
土井)。

5) GLP 基準下の毒性試験および安全性
薬理試験の実施

CNT-01 の血中での有効成分であるカプ
リン酸の血中濃度測定技術を、測定受託
業者に技術移転した。これにより毒性試
験における血中濃度の定量が可能となり
薬物動態の評価が可能となった(恵)。続
いて、治験実施に向けて必要な各種非臨
床 GLP 試験を実施し、高用量(無毒性量
1,000mg/kg 以上)でも CNT-01 の安全性
が確認しえた(加藤、田嶋)。

6) 医師主導治験の実施計画書等の作成、
IRB への申請、治験届提出

PMDA による対面助言に基づいて、First-
in-human 試験として特発性 TGCV を対
象とする第 I/IIa 相試験を計画し、その治
験実施計画書、患者同意説明文書、治験薬
概要書などを作成した。所属研究機関附

属病院における利益相反委員会、治験審
査委員会(IRB)での承認を経て治験届を
提出し、PMDA からの照会事項にも対応
した(平野、加藤、田嶋)。

7) GMP 基準下での治験原薬製造技術移
転、製造設備の立ち上げ

GMP 基準下での治験原薬製造は大阪大
学医学部附属病院薬剤部にて行うことと
し、製造技術を薬剤部内 GMP 製造施設
に技術移転したのち、治験薬原薬製造シ
ステムを構築した(平野)。

8) 治験原薬 GMP 製造

大阪大学医学部附属病院薬剤部において、
GMP 基準下治験原薬の予備製造を行っ
た。当初の計画通りの製造を行うことが
できたことにより、治験薬原薬製造シ
ステムの性能を確認した。(平野)

9) 診断基準の作成、公開

TGCV 症例に認められる多核白血球の空
胞化に着目して、末梢血塗抹標本を詳細
に観察、自動血液分析装置での本症のス
クリーニング検査法の開発に向け、検討
を重ねている。(稲葉、江副)。冠動脈イメ
ージング検査法(定量的冠動脈 CTA 法
(NCVC システム)等)や心臓シンチグ
ラム検査(BMIPP)が、TGCV の診断基
準の一項目になりうるか検討を重ねた。

(小谷、小林、内藤、羽尾、間賀田)。

また、剖検組織を用いた病理学的検討(植
田、財満)も行い、臨床的意義について検
討した。これまでの 6 年間の厚労省難病
TGCV 研究班の研究成果をまとめ
「TGCV 診断基準(初版)」を策定し、平

成 27 年 3 月 14 日に公開した（平野、小林、中村、長澤）。

1 0) TGCV 国際登録システムの活用促進

研究班では、昨年度から TGCV および中性脂肪蓄積症（Neutral lipid storage disease, NLS D）の国際的な症例登録システムを構築し、その運用を開始している。今年度はその利用を促進することを目的として、国内外の専門家、研究者の参加を得て第 3 回 TGCV/NLS D 国際シンポジウムを開催した。各国の研究者との情報の共有化を行い、国内治験ののちのグローバル治験実施の基礎を構築した。また、症例登録システムの利用推進もなされ、海外の症例登録数を増加させることに成功した。（平野）

1 1) 健常人における中鎖脂肪酸濃度の検討

研究協力者 大分大学 臨床薬理センター 今井浩光先生らとともに、健常人 100 名の、血中、中鎖脂肪酸の濃度を測定した。わが国の健常人ボランティアでは、約半数が検出感度以下であった（恵）。

1 2) TGCV モデル動物の開発とそれらを用いた薬効薬理試験（山田、谷本）

TGCV で生じる冠動脈求心性狭窄のメカニズムは明らかになっておらず、原発性 TGCV モデル動物である ATGL KO マウスにおいて通常では血管病変は認めないが、我々は動脈壁の外膜側からカフ刺激を加えることにより、TG 蓄積動脈硬化マウスモデルを作成することに成功して

いる。このモデル動物を使い、CNT-01 投与において血管病変に与える影響を検討したところ、ATGL 欠損による脂質代謝異常が血管外膜側からの刺激を誘発している可能性を見出した。

また、昨年度から引き続き、マイクロミニブタ（MMP）を用いた特発性 TGCV モデル動物の開発を行っている。（谷本）
ストレプトゾシン（STZ）を用いて MMP を糖尿病化することに成功しており、今後は CNT-01 投与による心血管系への中性脂肪蓄積に対する影響を検討していく。

1 3) 細胞内カプリン酸の動態評価とメタボローム解析

ATGL 欠損症由来皮膚線維芽細胞を用いて、非線形ラマン散乱顕微鏡により、重水素標識した中鎖脂肪酸の細胞内動態の観察、中鎖脂肪酸添加が及ぼす細胞内脂質動態の変化を検討したところ、脂肪酸鎖長による代謝経路の違いがあることを示唆する結果を得た（橋本）。

1 4) 末梢血多核白血球の細胞内リパーゼ活性測定系の開発

ATGL 活性やタンパク量を特異的に測定できる系の確立を目指している。今年度は、ATGL に対する中和抗体の作成を行った（高木）。

1 5) TGCV 症例由来 iPS 細胞の表現型（千葉）

原発性 TGCV 2 症例由来皮膚線維芽細胞から iPS 細胞を作成した。iPS 細胞から分化させた心筋細胞には、TG の蓄積が観察された。

16) 放射性標識脂肪酸誘導体を用いた薬物動態試験

放射性同位体で標識した C11 標識カプリン酸、C11 標識カプリン酸 TG を用い、マウスにおける吸収・代謝・分布・排泄について検討した。C11 標識カプリン酸は投与初期に心筋に高く取り込まれることが示された (間賀田)。

17) CNT-01 を用いた薬効薬理試験 (非 GLP)

野生型マウス小腸由来リポ蛋白に与える影響について検討、アポ B 含有リポ蛋白の産生低下が明らかになった (瀬川)。ATGL KO マウスの寿命と CNT-01 の投与量との間に、線形性が確認しえた (平野)。

18) 中鎖脂肪酸食事療法継続中の TGCV 症例の継続的評価、栄養指導
在宅で中鎖脂肪酸食事療法継続中の TGCV の 2 症例を対象とし、在宅での食事療法の効果とその問題点について検討した (杉村、安井)。

19) TGCV 類縁疾患症例の解析

大阪及び九州において、類縁疾患と考えられる症例を見出した (小澤、安野)。

20) 本研究班における知的財産の整備
本研究の過程で生じる様々な知的財産の整備について検討した (青江)。

D. 考察

中鎖脂肪酸含有医薬品を開発し治験開始を目指している本研究は、本年度が非

臨床段階 (ステップ 1) の 3 年目にあたる。必要な非臨床試験は全て実施され、問題はなかった。研究は順調に進み、First-in-human 試験の治験届を提出して、臨床段階 (ステップ 2) に入ることができた。これと同時に、糖尿病性 MMP の開発 (谷本) や ATGL 欠損マウスを用いた血管障害カフモデルの開発 (山田) といった動物モデルを用いた基礎的研究も引き続き行い、CNT-01 の作用メカニズムを詳細に明らかにしたいと考えている。

本研究は、追加交付を頂いたこともあり、平成 24 年度の 5 次募集で採択された後、実質研究期間 2 年 6 か月で、非臨床試験 (ステップ 1) を終了、治験届提出まで遂行できた (ステップ 2 への移行)。

近年、各国における法令が整備され、希少難病に対する医薬品が開発され、いくつかの難治性疾患患者の福音となっている。しかしながら、その一方で、開発された医薬品の価格が高価過ぎる場合があることの問題点が指摘されている (Editorial. Reducing the cost of rare disease drug. Lancet 385: 746, 2015)。

本研究での開発中の CNT-01 の主成分である中鎖脂肪酸は、食事療法として、これまで 50 年以上の歴史があり、その安全性は担保できている。また、代謝領域、神経内科領域、消化器領域の希少難病のみならず common disease に対する食事療法の効果も報告されている。

CNT-01 を、TGCV のみならず、上述した多くの疾患に対する risk/benefit,

cost/effectiveness に優れ、食事療法でしばしば問題となる adherence, compliance を改善できる医薬品とすべく、研究を推進したいと考えている。

E. 結論

TGCV の臨床像、病態を明らかにし、その疾患概念を確立した。本症の診断を容易とするための新規検査法の開発を進め、この結果を盛り込んだ「TGCV 診断基準（初版）」を策定し、平成 27 年 3 月 14 日、「TGCV 診断の手引き」を公開した。「中鎖脂肪酸含有医薬品（治験薬コード CNT-01）の開発」は順調に進捗した。必要な GLP 基準下の毒性試験および安全性薬理試験を実施したのち、医師主導治験の実施計画書等を作成して IRB へ申請し、治験実施が承認された。GMP 基準下での治験原薬の製造システムの構築も終了し、治験原薬の予備製造も問題なく完了した。治験実施に向けて準備を進めている。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hirano K, Ikeda Y, Sugimura K, Sakata Y Cardiomyocyte steatosis and defective washout of iodine-123-b-methylodiphenyl-pentadecanoic acid in genetic deficiency of adiposetriglyceride lipase
Eur Heart J 36:580 2015

Higashi M, Hirano K, Kobayashi K, Ikeda Y, Issiki A, Otsuka T, Suzuki A, Yamaguchi S, Zaima, N, Hamada S, Hanada H, Suzuki C, Nakamura H, Nagasaka H, Miyata T, Miyamoto Y, Kobayashi K, Naito H, Toda T

Distinct cardiac phenotype between two homozygotes born in a village with accumulation of a genetic deficiency of adipose triglyceride lipase
Int J Cardiol 192: 30-32, 2015

Ikeda Y, Zaima N, Hirano K, Mano M, Kobayashi K, Yamada S, Yamaguchi S, Suzuki A, Kanzaki H, Hamasaki T, Kotani J, Kato S, Nagasaka H, Setou M, Ishibashi-Ueda H

Coronary triglyceride deposition in contemporary advanced diabetics
Pathol Int 64(7) 325-335 2014

Suzuki A, Nagasaka H, Ochi Y, Kobayashi K, Nakamura H, Nakatani D, Yamaguchi S, Yamaki S, Wada A, Shirata Y, Hui SP, Toda T, Kuroda H, Chiba H, Hirano K

Peripheral leucocytes' anomaly detected with routine automated hematology analyzer sensitive to adipose triglyceride lipase deficiency manifesting neutral lipid storage disease with myopathy/triglyceride deposit cardiomyovasculopathy.
Mol Genet Metab Rep. 1 249-253 2014 .

- Kaneko K, Kuroda H, Izumi R, Tateyama M, Kato M, Sugimura K, Sakata Y, Ikeda Y, Hirano K, Aoki M
A novel mutation of PNPLA2 causes neutral lipid storage disease with myopathy and triglyceride deposit cardiomyovascuopathy.
Neuromuscl Dis 24 634-641 2014
- Yamaguchi S, Zhang B, Tomonaga T, Seino U, Kanagawa A, Nagasaka H, Suzuki A, Miida T, Yamada S, Sasaguri Y, Doi T, Saku K, Okazaki M, Tochino Y, Hirano K
Selective evaluation of high density lipoprotein from mouse small intestines by an in situ perfusion technique
J Lipid Res. 55(5) 905-918 2014
- Shimizu K, Ogura H, Wasa M, Hirose T, Shimazu T, Nagasaka H, Hirano K
Refractory hypoglycemia and subsequent cardiogenic shock in starvation and refeeding: report of three cases.
Nutrition. 30(9) 1090-1092 2014
- Hara Y, Kawasaki N, Hirano K, Hashimoto Y, Adachi J, Watanabe S, Tomonaga T
Quantitative proteomic analysis of cultured skin fibroblast cells derived from patients with triglyceride deposit cardiomyovascuopathy
Orphanet J Rare Dis. 8(1) 197 2013
- Hirano K, Tanaka T, Ikeda Y, Yamaguchi S, Zaima N, Kobayashi K, Suzuki A, Sakata Y, Sakata Y, Kobayashi K, Toda T, Fukushima N, Ishibashi-Ueda H, Tavian D, Nagasaka H, Hui SP, Chiba H, Sawa Y, Hori M
Genetic mutations in the adipose triglyceride lipase and myocardial up-regulation of peroxisome proliferated activated receptor-gamma in patients with triglyceride deposit cardiomyovascuopathy.
Biochem Biophys Res Commun. 443(2) 574-579 2014
- Ikeda Y, Hirano K (equal contribution), Fukushima N, Sawa Y
A novel type of human spontaneous coronary atherosclerosis with triglyceride deposition
Eur Heart J. 35(13) 875 2014.
- Inoue T, Kobayashi K, Inoguchi T, Sonoda N, Maeda Y, Hirata E, Fujimura Y, Miura D, Hirano K, Takayanagi R
Down regulation of adipose triglyceride lipase in the heart aggravates diabetic cardiomyopathy in db/db mice.
Biochem Biophys Res Commun. 438(1) 224-229 2013
- Lin Y, Chiba S, Suzuki A, Yamaguchi S,

- Nakanishi T, Matsumoto H, Ikeda Y, Ishibashi-Ueda H, Hirano K, Kato S
Vascular smooth muscle cells isolated from adipose triglyceride lipase-deficient mice exhibit distinct phenotype and phenotypic plasticity
Biochem Biophys Res Commun. 434(3) 534-540 2013
- Nakamura K, Hirano K, Wu SM
iPS Cell Modeling of Cardiometabolic Diseases
J Cardiovasc Trans Res. 6(1) 46-53 2013
- 平野賢一 中性脂肪蓄積心筋血管症
先端医療シリーズ 43 循環器疾患の最新医療 先端医療技術研究所 114-7 2012
- 平野賢一、鈴木 朗 ATGL 欠損症
先天代謝ハンドブック 中山書店 394-5 2012
- 平野賢一、鈴木 朗 中性脂肪蓄積心筋血管症 医学のあゆみ 242 937-41 2012
- 平野賢一 中性脂肪蓄積心筋血管症
循環器内科 71 576-8 2012
- 平野賢一、長坂博範 脂質異常症と脂質蓄積症 *Surgical Frontier* 19 23-8 2012
- Inaba T, Nomura N, Takahashi M, Ishizuka K, Yoshika K, Yuasa S, Nakanishi M, Fujita N
Characteristic scattergram of white blood cells obtained using the Pentra MS CRP hematology analyzer in a patient with neutral lipid storage disease.
Laboratory Hematology 19(4) 22-24 2013
- Sata H, Shibayama H, Maeda I, Habuchi Y, Nakatani E, Fukushima K, Fujita J, Ezoe S, Tadokoro S, Maeda T, Mizuki M, Kosugi S, Nakagawa M, Ueda S, Iida M, Tokumine Y, Azenishi Y, Mitsui H, Oritani K, Kanakura Y
Quantitative polymerase chain reaction analysis with allele-specific oligonucleotide primers for individual IgH VDJ regions to evaluate tumor burden in myeloma patients
Exp Hematol in press 2015
- Miyaoka T, Furuya M, Horiguchi J, Wake R, Hashioka S, Tohyama M, Mori N, Minabe Y, Iyo M, Ueno S, Ezoe S, Murotani K, Hoshino S, Seno H
Efficacy and safety of yokukansan in treatment-resistant schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial (a Positive and Negative Syndrome Scale, five-factor analysis)
Psychopharmacology (Berl) 232 155-164 2015
- Fuda H, Watanabe M, Hui SP, Joko S, Okabe H, Jin S, Takeda S, Miki E, Watanabe T, Chiba H

Anti-apoptotic effects of novel phenolic antioxidant isolated from the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) on cultured human hepatocytes under oxidative stress

Food Chemistry 176 226-233 2015

Shrestha R, Hui SP*, Imai H, Hashimoto S, Uemura N, Takeda S, Fuda H, Suzuki A, Yamaguchi S, Hirano K, Chiba H. (*CA)

Plasma capric acid concentrations in healthy subjects determined by high-performance liquid chromatography
Ann Clin Biochem in press 2015

Shrestha R, Hui SP*, Miura Y, Yagi A, Takahashi Y, Takeda S, Fuda H, Chiba H (*CA)

Identification of molecular species of oxidized triglyceride in plasma and its distribution in lipoproteins
Clin Chem Lab Med in press 2015

惠 淑萍

LC/MS を用いた過酸化脂質および生理活性脂質の分析
臨床病理 62(3) 283-290 2014

Ohkawa F, Takeda S, Hui SP, Sakurai T, Jin S, Fuda H, Chiba H
Evaluation of antioxidant activity of natural and synthetic compounds against LDL oxidation using CNT electrodes
IEEE Sensors J 14(2) 532-537 2014

Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui SP, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, Ohtake A, Miida T

Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children during the first early of life
Clinica Chimica Acta 433 1-4 2014

Nishimukai M, Maeba R, Yamazaki Y, Nezu T, Sakurai T, Takahashi Y, Hui SP, Chiba H, Okazaki T, Hara H
Serum choline plasmalogens, particularly those with oleic acid in sn-2, are associated with proatherogenic state
J Lipid Res 55(5) 956-965 2014

Shrestha R, Hui SP*, Sakurai T, Yagi A, Takahashi Y, Takeda S, Jin S, Fuda H, Chiba H. (*CA)
Identification of molecular species of cholesteryl ester hydroperoxides in very low-density and intermediate-density lipoproteins
Ann Clin Biochem 51(6) 662-671 2014

Fujita Y, Kozawa J, Iwahashi H, Yoneda S, Uno S, Yoshikawa A, Okita K, Eguchi H, Nagano H, Imagawa A, Shimomura I
Increment of serum C-peptide measured by glucagon test closely correlates with human relative beta-cell area

- Endocrine Journal in press 2015
- Fukuda S, Hirata A, Nishizawa H, Nagao H, Kashine S, Kimura T, Inoue K, Fujishima Y, Yamaoka M, Kozawa J, Kitamura T, Yasuda T, Maeda N, Imagawa A, Funahashi T, Shimomura I
Systemic arteriosclerosis and eating behavior in Japanese type 2 diabetic patients with visceral fat accumulation
Cardiovascular Diabetology 14(1) 8
2015
- Okita K, Iwahashi H, Kozawa J, Okauchi Y, Funahashi T, Imagawa A, Shimomura I
Usefulness of the insulin tolerance test in patients with type 2 diabetes receiving insulin therapy
Journal of Diabetes Investigation 5 305-12 2014
- Nagata I, Ike A, Nishikawa H, Zhang B, Sugihara M, Mori K, Iwata A, Kawamura A, Shirai K, Uehara Y, Ogawa M, Miura S, Saku K
Associations between lipid profiles and MACE in hemodialysis patients with percutaneous coronary intervention: from the FU-Registry
J Cardiol 65 105-111 2015
- Ike A, Shirai K, Nishikawa H, Iwata A, Yahiro E, Sugihara M, Kawamura A, Uehara Y, Zhang B, Ogawa M, Mori K, Miura SI, Saku K
Associations between different types of hypoglycemic agents and the clinical outcome of percutaneous coronary intervention in diabetic patients-From the FU-Registry
J Cardiol in press 2014
- Inoue T, Ihara Y, Tomonoh Y, Nakamura N, Ninomiya S, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Zhang B, Hirose S
Early onset and focal spike discharges as indicators of poor prognosis for myoclonic-astatic epilepsy
Brain Dev 36 613-619 2014
- Ishii A, Kanaumi T, Sohda M, Misumi Y, Zhang B, Kakinuma N, Haga Y, Watanabe K, Takeda S, Okada M, Ueno S, Kaneko S, Takashima S, Hirose S
Association of nonsense mutation in GABRG2 with abnormal trafficking of GABAA receptors in severe epilepsy
Epilepsy Res 108 420-432 2014
- Sasaki M, Ishii A, Saito Y, Morisada N, Iijima K, Takada S, Araki A, Tanabe Y, Arai H, Yamashita S, Ohashi T, Oda Y, Ichiseki H, Hirabayashi S, Yasuhara A, Kawawaki H, Kimura S, Shimono M, Narumiya S, Suzuki M, Yoshida T, Oyazato Y, Tsuneishi S, Ozasa S, Yokochi K, Dejima S, Akiyama T, Kishi N, Kira R, Ikeda T, Oguni H, Zhang B, Tsuji S, Hirose S
Genotype-phenotype correlations in

alternating hemiplegia of childhood
Neurology 82 482-490 2014

Shimizu T, Miura S, Tanigawa H,
Kuвано T, Zhang B, Uehara Y,
Saku K

Rosuvastatin activates ATP-binding
cassette transporter A1-dependent
efflux ex vivo and promotes reverse
cholesterol transport in macrophage
cells in mice fed a high-fat diet
Arterioscler Thromb Vasc Biol
34 2246-2253 2014

Takata K, Imaizumi S, Kawachi E,
Suematsu Y, Shimizu T, Abe S,
Matsuo Y, Tsukahara H, Noda K,
Yahiro E, Zhang B, Uehara Y, Miura
S, Saku K

Impact of cigarette smoking cessation
on high-density lipoprotein
functionality
Circ J 78 2955-2962 2014

Higurashi N, Uchida T, Lossin C,
Misumi Y, Okada Y, Akamatsu W,
Imaizumi Y, Zhang B, Nabeshima K,
Mori MX, Katsurabayashi S, Shirasaka
Y, Okano H, Hirose S

A human Dravet syndrome model from
patient induced pluripotent stem cells
Mol Brain 6 19 2013

Noda K, Takahira M, Zhang B, Saku
K
Series: Clinical study from Japan and

its reflections; introduction of a
randomized, double-blind, controlled,
comparative trial of formula food in
visceral fat obesity: FLAVO study
Nihon Naika Gakkai Zasshi
102(8) 2087-2092 2013

Uehara Y, Ando S, Yahiro E, Oniki K,
Ayaori M, Abe S, Kawachi E, Zhang
B, Shioi S, Tanigawa H, Imaizumi S,
Miura S, Saku K
FAMP, a novel apoA-I mimetic peptide,
suppresses aortic plaque formation
through promotion of biological HDL
function in ApoE-deficient mice
J Am Heart Assoc 2(3) e000048 2013

Zhang B, Kawachi E, Miura S, Uehara
Y, Matsunaga A, Kuroki M, Saku K
Therapeutic approaches to the
regulation of metabolism of high-
density lipoprotein. Novel HDL-
directed pharmacological intervention
and exercise
Circ J 77(11) 2651-2663 2013

Ike A, Shirai K, Nishikawa H, Zhang
B, Kawamura A, Iwata A, Mori K,
Ogawa M, Miura S, Noda K, Saku K
Series: clinical study from Japan and
its reflections; impact of glycemic
control on the clinical outcome in
diabetic patients with percutaneous
coronary intervention: from the FU-
registry—
Nihon Naika Gakkai Zasshi
101(2) 504-511 2012