

令和 5 年 5 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16465

研究課題名(和文) 経鼻 脳実質内薬物送達法による中枢系疾患治療を指向した神経炎症抑制効果の検討

研究課題名(英文) Efficient nose-to-brain drug delivery system for drug therapy against neuroinflammation

研究代表者

井上 大輔 (Inoue, Daisuke)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・助教

研究者番号：50550620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、経鼻投与による効率的脳内薬物送達法を利用した神経変性疾患の新規治療薬開発を目指して、抗炎症薬の経鼻投与による神経炎症抑制効果について検討を試みた。本研究ではまず、効率的な鼻から脳への薬物送達を達成できる経鼻投与型製剤化研究を進めた。種々剤形の固形製剤を調製した結果、粉末製剤では、鼻腔内溶解性の改善及び良好な噴霧特性の付加が可能であり、経鼻投与後の脳移行性が向上することが明らかとなった。現在、本検討で開発した抗炎症薬の粉末製剤を用いて、LPS誘発神経炎症モデルラットに対する神経炎症抑制効果の検討を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、現在、根治的治療法がない神経変性疾患に対する治療薬開発に繋がる新規知見を得ている。神経変性疾患は世界的に急増している一方でその治療薬がなく医薬ニーズの極めた高い疾患群である。本研究成果を発展させることで、神経変性疾患の治療を可能にする画期的医薬品の開発を目指している。また、通常の投与方法では脳をはじめとした中枢神経系へ十分量の薬物を送達することは困難であり、低い薬物送達性は中枢神経系疾患に対する治療薬開発の大きな障壁となる。本研究は、実利用可能な脳への薬物送達プラットフォームとして経鼻送達技術を発展できる可能性があり、得られた成果は社会的意義も大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, for developing novel therapeutic strategy on the neurodegenerative diseases, the inhibitory effects of anti-inflammatory drugs on neuroinflammation using the nose-to-brain drug delivery system has been investigated. First of all, the formulation development for intranasal application that can achieve efficient drug delivery from the nose to brain was conducted. As a result of preparing solid formulations in various dosage forms, it was found that the powder formulation can improve the dissolution behavior in the nasal mucus and have good nebulization properties. the powder formulation improved the brain delivery of anti-inflammatory drugs after intranasal administration. Currently, it is continuing to investigate the anti-inflammatory effect of neuroinflammation on a LPS-induced model rats using the powder formulation of anti-inflammatory drugs developed in this study.

研究分野：薬物送達学

キーワード：経鼻投与 脳内薬物送達 神経変性疾患 経鼻投与型製剤

1. 研究開始当初の背景

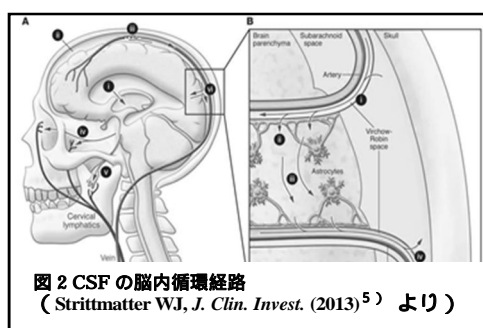
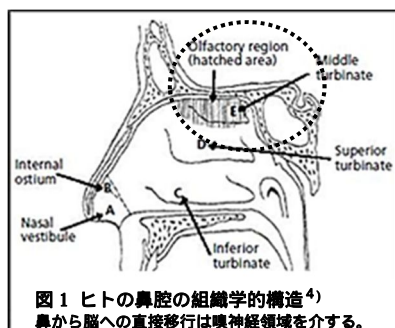
現在、日本を筆頭に世界規模で超高齢化社会を迎え、加齢に伴う様々な精神神経疾患が社会問題化している。認知症では、国内で現在 500 万人、2025 年に 700 万人 (65 歳以上高齢者の 5 人に 1 人) に達すると予測され (厚生労働省 2017 年発表)、また世界では、2010 年に 3560 万人、2030 年に 6570 万人、2050 年には 1 億人を超えると予想されている。しかし、いまだ神経変性疾患に対する優れた根治的治療効果を示す薬物や有効な治療戦略がなく、メディカルニーズが極めて高い疾患分野であるため、早急な治療薬開発および治療戦略の確立が喫緊の課題となっており、活発な研究が日々進められている。

現在、アルツハイマー型認知症をはじめ神経変性疾患に対する治療薬の新規開発が活発に行われており、*in vitro* 系および *in vivo* 動物実験では薬理効果や治療効果が認められる候補化合物が発見される一方で、多数の薬物が過去に臨床研究されたが、すべて第 III 相試験までに有効性が得られず断念している。これまでに、薬物治療として認知機能障害の要因である、 β -アミロイドやタウタンパク質の異常凝集に対する抑制効果をターゲットとした治療戦略で多数の研究が行われた結果、本治療法では疾患発症までの期間を延長することは可能であるが、根治的治療ができないことが問題視され始め、現在では、疾患の根治的治療を目指したタンパク質異常凝集の分子機序解明が進められている。最近では、この異常凝集が脳内グリア細胞であるアストロサイトやミクログリアの活性化に伴う慢性神経炎症により惹起され、タンパク質の脳内蓄積に対する神経炎症の関与が強く示唆されており、多数の神経変性疾患の発症機序として「**神経炎症**」が注目されている。実際に、脳内炎症モデル動物において、神経炎症抑制による認知機能改善効果が多数報告されており、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) やロイコトリエン阻害薬などの抗炎症性薬物を適用することで、神経炎症が抑制され、その結果、認知機能改善効果が認められた知見もある。

2. 研究の目的

神経炎症抑制をターゲットとした薬物治療法が注目される一方で、治療戦略として確立し、医薬品として実用化するためには、候補化合物の中枢系領域への薬物送達性が大きな課題となる。中枢系疾患に対する薬物治療を困難にする最大の要因は、中枢領域へ有効量の薬物を送達できないことにある。中枢領域では、生理的バリアとして機能する血液脳関門 (BBB) などの関門系により血中から脳への物質移行が厳格に制御されるため、生体外異物である投与薬物は BBB を通過できないために脳内送達極めて困難となり、有効な治療効果が得られない結果となる。

我々はこれまでに、中枢系疾患に対する有効な薬物治療戦略を構築するにあたり、血液を介さず BBB を回避でき、直接的に脳内へと薬物送達できる特殊な脳移行経路「鼻腔 - 脳経路」に着目し、経鼻投与後の薬物脳移行動態を詳細解析する基礎的研究を進めてきた。鼻腔内には脳から嗅神経が突出した領域があり、経鼻投与された薬物はこの嗅神経領域 (Olfactory region) から脳内へと直接的移行すると考えられており (図 1)、血液を介さない経路であるため高い脳移行が可能となる。この鼻腔から脳への直接移行メカニズムとして、薬物は鼻粘膜から嗅神経周辺部を満たす脳脊髄液 (CSF) へ直接移行後、脳実質内へ送達される結果を得ている。さらに、我々は、ラットの脳内体液循環システム (The glymphatic system; GPS) (図 2) を活性化することで脳領域の CSF 循環が活発になる結果、経鼻投与薬物の直接移行が促進され、脳実質内送達量が増大することを実証した。この GPS は睡眠により活性化されることが知られており、生体の生理機能変動を利用した脳内活動活性を考慮することで、経鼻投与ではより高効率な脳実質内薬物送達が可能となり、新規治療戦略として実用化できる可能性を得た。この新規知見を利用した経鼻投与による効率的な脳実質内薬物送達法を適用することで、中枢疾患に対する新規薬物治療戦略の開発が可能と考えられた。



そこで本研究では、実利用可能な神経変性疾患治療の根拠的治療戦略を確立することを最終目的として、これまでの研究成果で構築した経鼻投与による効率的な薬物脳実質内送達システムを基盤とした神経炎症治療に資する薬物治療法の確立を行う。本研究では、抗炎症薬の脳移行特性の詳細を解明する薬物動態学的解析を基盤として、実際に経鼻適用に適した経鼻投与型製剤の開発を試み、製剤化した抗炎症薬による神経炎症抑制効果の検証を進める。

3. 研究の方法

本研究では抗炎症薬のモデル薬物として、NSAIDsであるケトプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ロキソプロフェンを選択し、種々検討に使用した。

経鼻-脳実質内薬物送達に適した経鼻投与型固形製剤の開発

本研究では、実利用可能な経鼻投与型製剤の開発を目指して、より高効率な脳内送達性を有する新規固形製剤の開発を目指した。各種モデル薬物と種々高分子ポリマーを混合した後、噴霧乾燥することで粉末製剤を得た。また、薬物/ポリマー混合溶液を真空乾燥して薄膜製剤を得た。得られた各製剤は、本研究で構築した鼻腔内環境を模倣した *in vitro* 溶解性評価システムを用いて、鼻腔内での溶解挙動を評価した。

経鼻投与後の *in vivo* 脳移行性評価

各種抗炎症薬を経鼻投与した後の薬物脳移行性を動態解析した。イソフルラン麻酔下、ラット鼻腔内に噴霧し、一定時間経過後に、大槽穿刺により脳脊髄液 (CSF) を採取した。さらに、脱血かん流処置後、脳組織を採取した。得られた CSF 及び脳組織中に含まれる薬物濃度を定量し、経鼻投与後の脳移行動態を解析した。

4. 研究成果

経鼻投与型固形製剤の開発

本研究で調製した粉末製剤について、粉末 X 線回折及び電子顕微鏡観察による物性解析を行った結果、薬物と高分子ポリマーを混合して噴霧乾燥することで、薬物の結晶形が残存する微粉末となることが明らかとなった。さらに、溶解性を評価した結果、粉末製剤化することで原薬粉末と比較して有意に溶解性が改善されることが示された。また、薬物と高分子ポリマーの混合溶液を真空乾燥して得られた薄膜状製剤については、非晶質化することで、鼻粘液に対する溶解性が向上することが明らかとなった。真空乾燥製剤については、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ロキソプロフェンについて検討を行った結果、各製剤で同様に非晶質製剤となり、その結果、溶解性が改善することが示された。本研究で開発したこれら固形製剤は難溶性薬物であるモデル薬物の溶解性を有意に改善できたことから、経鼻投与型製剤としての有用性が期待できるものと考えられた。

経鼻投与後の脳移行性評価

各抗炎症薬をラットに経鼻投与した結果、溶液および原末を噴霧した場合には、脳へほとんど送達されないことが明らかとなった。本検討で使用したモデル薬物はいずれも難溶性薬物であるために原末投与では鼻腔内で溶解できず吸収されなかったためと考えられた。一方、溶液投与では 20%程度の吸収率を得ることができたが脳内へ送達されなかった。これは本検討で使用したモデル薬物は、血液脳関門透過性が低いために、鼻粘膜吸収後の循環血から血液脳関門を介した脳への送達性が乏しいことに起因すると考えられた。これらの結果から、難溶性薬物であるモデル薬物では、固形製剤化により溶解性を改善することで、鼻腔内での溶解性が向上し、効率的な鼻から脳への薬物送達を達成できる可能性が示唆された。現在、調製した固形製剤を用いて、脳移行動態の詳細な解析を進めている。

現在、ケトプロフェン粉末製剤の経鼻適用により LPS 誘発神経炎症モデルラットに対する神経炎症抑制効果を検証している。本研究で得られた基礎的知見を応用することで、経鼻-脳薬物送達法を利用した高効率な脳内薬物送達技術の構築が可能と思われる。本研究を発展させ、いまだ治療薬のない神経変性疾患に対する薬物治療法を確立することで、社会に大きく貢献できる研究へと発展させたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Inoue Daisuke, Furubayashi Tomoyuki, Tanaka Akiko, Sakane Toshiyasu, Sugano Kiyohiko	4. 巻 17
2. 論文標題 Effect of Cerebrospinal Fluid Circulation on Nose-to-Brain Direct Delivery and Distribution of Caffeine in Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 4067 ~ 4076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00495	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 -

1. 著者名 Inoue Daisuke, Yamashita Ayari, To Hideto	4. 巻 14
2. 論文標題 Formulation and In Vitro Characterization of a Vacuum-Dried Drug?Polymer Thin Film for Intranasal Application	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Polymers	6. 最初と最後の頁 2954 ~ 2954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/polym14142954	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 Inoue Daisuke, Yamashita Ayari, To Hideto	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of In Vitro Evaluation System for Assessing Drug Dissolution Considering Physiological Environment in Nasal Cavity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 2350 ~ 2350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics14112350	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 井上大輔
2. 発表標題 Nose to brain drug deliveryを利用した経鼻投与型製剤開発に向けた研究
3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下彩里、井上大輔、田中晶子、古林呂之、坂根稔康、菅野清彦
2. 発表標題 噴霧乾燥によるketoprofen粉末製剤の調製およびin vitro鼻粘液溶解性評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下彩里、井上大輔、田中晶子、古林呂之、菅野清彦、坂根稔康
2. 発表標題 真空乾燥による各種抗炎症薬の経鼻投与型製剤の調製と鼻腔内溶出性評価
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下彩里、井上大輔、田中晶子、古林呂之、菅野清彦、坂根稔康
2. 発表標題 難溶性薬物ketoprofenの溶解性改善を目指した経鼻投与型粉末製剤の開発
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2021/第29回クリニカルファーマシーシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Daisuke Inoue, Ayari Yamashita, Akiko Tanaka, Tomoyuki Furubayashi, Toshiyasu Sakane
2. 発表標題 Effect of pH Change in Nasal Mucus on Drug Dissolution from Powder Formulation of Weakly Basic Drugs
3. 学会等名 2021 AAPS PharmSci360 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上大輔、浅田 優也、山下彩里、田中晶子、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 経鼻投与型ゲル製剤の製剤粘性が及ぼす鼻腔内薬物溶出挙動への影響とその定量的評価
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上 大輔、野原 悠加、菅野 清彦
2. 発表標題 粉末製剤投与後の鼻腔内溶出性を評価可能なin vitro溶出評価システムの開発
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下彩里、井上大輔、植草大河、菅野清彦
2. 発表標題 神経炎症治療を指向した経鼻投与型ketoprofen粉末製剤の調製
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上大輔、古林呂之、坂根稔康、菅野清彦
2. 発表標題 動態学的評価に基づく鼻腔から脳脊髄液を介した脳実質への薬物送達機構の解析
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下彩里、井上大輔、菅野清彦
2. 発表標題 経鼻投与型ketoprofen粉末製剤のin vitro鼻粘液溶解性評価
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Daisuke Inoue, Yuuka Nohara, Kiyohiko Sugano
2. 発表標題 Establishment of In Vitro Evaluation System on Intranasal Dissolution for Nasal Powder Formulations
3. 学会等名 2020 AAPS PharmSci360 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上大輔、田中晶子、湯谷玲子、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔内投与後の脳への薬物移行特性の解析：脳の部位別動態に基づく評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第34年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上大輔、山下彩里、田中晶子、古林呂之、坂根稔康、藤秀人
2. 発表標題 脳部位別動態解析に基づく経鼻脳薬物送達効率の定量評価及び薬物物性と脳移行性の相関性評価
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------