

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06803

研究課題名(和文) アルツハイマー型認知症治療を目指したインスリン経鼻投与後の新規脳内送達法の開発

研究課題名(英文) Development of novel brain delivery system after nasal administration of insulin for the treatment of Alzheimer's type dementia

研究代表者

山本 昌 (Yamamoto, Akira)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00166779

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、インスリンに各種吸収促進剤を併用した際のインスリンの脳移行性について検討した。その結果、N-アシルタウリンの一種である sodium methyl lauroyl taurate (LMT) や sodium methyl cocoyl taurate (CMT) の併用により、血漿中インスリン濃度は上昇したものの、インスリンの脳移行性は逆に低下することが認められた。また、他の吸収促進剤をインスリンと併用した際も同様の結果が得られた。以上のことから、これら吸収促進剤は、インスリンの脳移行性には効果が見られないものの、経鼻投与後の全身循環系への移行性を改善できることが認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、アルツハイマー型認知症患者が増加しており、本疾患の予防及び治療法の確立のためには、アルツハイマー型認知症治療薬を脳に移行させる必要がある。一方、薬物の経鼻投与において鼻腔から脳脊髄液への薬物の直接移行経路が存在することが知られている。そこで本研究では、各種吸収促進剤を用いて軽度アルツハイマー型認知症治療に効果がみられるインスリンの経鼻投与後の脳移行性を検討した。その結果、インスリンの経鼻投与後の脳移行性は増大しなかったが、全身循環系への移行性が改善できることが認められた。したがって、今後、本吸収促進剤が、インスリンの経鼻吸収後の血液-脳関門透過性を増大できるかを検討する予定である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the effects of absorption enhancers on the brain delivery of insulin after nasal administration. N-acyl taurates including sodium methyl lauroyl taurate (LMT) and sodium methyl cocoyl taurate (CMT), which are absorption enhancers improved the nasal absorption of insulin, but it did not increase the brain concentration of insulin after nasal administration. Similar results were also observed in the case of other types of absorption enhancers. Based on these findings, it was suggested that these absorption enhancers were effective to improve the nasal absorption of insulin to the systemic circulation, although they did not increase the brain delivery of insulin after nasal administration.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：インスリン 経鼻投与 吸収促進剤 吸収改善

## 1. 研究開始当初の背景

急速に高齢化が進む我が国において、15年後には65歳以上の人口が全人口の3分の1を占め、認知症患者数も300万人を超えると予想されており、その予防及び治療法の確立は急務である。これら認知症のうち、アルツハイマー型認知症は、主として初老期以降に発症し、緩徐進行性の経過をたどるが、認知症の原因として最も頻度の高い脳の変性疾患である。

近年、アルツハイマー型認知症治療薬の開発が進められており、現在までに、タクリン、ドネペジル、リバスチグミン、ガランタミンなどの各種 acetylcholine esterase (AChE) 阻害剤ならびにグルタミン酸の過剰放出を抑制するメマンチンなどが臨床応用されている。しかしながら、これら治療薬は、進行を遅らす作用はあるものの根本的な治療薬ではなく、新薬の開発が望まれている。さらに、最近ではアルツハイマー型認知症患者の脳に出現し、疾患の原因物質の一つとして考えられているアミロイド $\beta$  (A $\beta$ ) やタウタンパク質の凝集を抑制する薬物の開発も盛んに研究されているが、実用化に至った薬物はほとんどないのが現状である。

一方、脳内にはインスリンが存在するとともに脳内の神経細胞にはインスリン受容体が発現しており、インスリンを介したシグナルはシナプス形成や記憶・学習能力に影響を与えていることが報告されている。したがって、脳内のインスリンの欠乏は、アルツハイマー型認知症の要因の一つとも考えられることから、インスリンが新たなアルツハイマー型認知症の治療薬として注目されている。しかしながら、インスリンは高分子であるため、脳に存在する血液 - 脳関門を透過しにくく、通常のインスリンの投与経路である皮下注射や筋肉内投与では十分な量のインスリンを脳に移行させることができないことが予想される。こうした状況の下、近年、薬物の経鼻投与において鼻腔から脳脊髄液に直接薬物が移行する経路が存在することが知られており、血液 - 脳関門を透過しにくい水溶性薬物や高分子薬物の新たな脳への移行経路（バイパス経路）として注目されている。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、最近、軽度のアルツハイマー型認知症治療薬として注目されているインスリンに着目し、インスリン経鼻投与後の脳への移行性を検討することを目的とする。また、最近、当研究室で優れた吸収促進効果を有することを見出した *N*-アシルタウリンなどの製剤添加物を併用した際のインスリン経鼻投与後の血液中ならびに脳への移行性についても評価する。

薬物の経鼻投与ならびに投与後の脳への移行性に関する研究は、1990年代から行われてきたが、最近、中枢をターゲットとする抗うつ薬、パーキンソン病治療薬、抗がん薬、アルツハイマー型認知症治療薬、抗肥満薬などが増加し、近年、再び注目を集めている。一方、当研究室では、最近、難吸収性化合物である 5(6)-carboxyfluorescein (CF) の消化管吸収性を顕著に改善し、なおかつ消化管粘膜障害性がほとんど観察されない有効かつ安全性の高い吸収促進剤である *N*-アシルタウリンを独自に見出した。また、本吸収促進剤は、既に自閉症治療薬であるオキシトシンの鼻腔内投与後の脳移行性改善に有効であることが認められていることから、インスリンの経鼻投与後の脳移行性の改善が期待される。

## 3. 研究の方法

薬液の調製：

本研究では、インスリンが軽度のアルツハイマー型認知症治療効果があるとの報告から、モデル薬物にインスリンを選択し、10 U/kg の濃度になるように薬液を調製する。また、インスリン経鼻投与後の脳移行性を改善するために、*N*-アシルタウリン、カプリン酸関連化合物及び増粘剤を選択し、インスリンと同時に併用した。各種 *N*-アシルタウリンとしては、sodium methyl lauroyl taurate (LMT)、sodium methyl myristoyl taurate (MMT)、sodium methyl palmitoyl taurate (PMT)、sodium methyl stearoyl taurate (LMT)、sodium methyl cocoyl taurate (CMT) を選択した。また、カプリン酸関連化合物である propylene glycol dicaprinate (PDD)、propylene glycol caprylate (Sefsol-218)、propylene glycol dicaprylate (Sefsol-228)、diethyl sebacate (DES-SP)、diisopropyl adipate (DID)、diisopropyl cebacate (DIS) を用いた。さらに、粘膜付着性を有する製剤添加物であるキトサン及びメチルセルロースも利用した。

#### インスリンの鼻粘膜投与後の脳移行性実験：

マウスを麻酔下、仰向けに固定し、ピペットマンを用いてインスリン溶液を鼻腔内投与後、インスリンの脳移行性を評価した。インスリンの脳移行性は、インスリン経鼻投与後、一定時間後に頸椎を脱臼し、脳内インスリン濃度を測定することにより評価した。

#### 脳内インスリン濃度の測定法：

マウスを頸椎脱臼させて安楽死させた後、腹部大静脈から採血すると共に左心室から冷やした生理食塩水を還流した後、脳を摘出した。取り出した脳は、冷やした生理食塩水で洗浄後、脳の重量を測定し、その4倍量のタンパク分解酵素阻害剤を含んだ溶液を加えた。その後、氷上でホモジナイズした後、遠心分離し、上清中のインスリン濃度を ELISA 法にて測定した。

#### インスリンの経鼻吸収実験：

ラットを麻酔下、インスリン溶液を鼻腔内投与後、インスリンの経時的に採血を行い、血糖値の評価を行った。また、同時にマイクロプレートリーダーにて血漿中のインスリン濃度を測定した。また、吸収促進剤を用いた場合、インスリンと各種吸収促進剤を混合した投与液を調製し、鼻腔内投与後、上記の方法と同様に評価した。

#### 各種吸収促進剤の鼻粘膜障害性評価：

ラットに各種吸収促進剤を鼻腔内投与し、一定時間後に、PBS で鼻粘膜の LDH（乳酸脱水素酵素）を採取し、マイクロプレートリーダーにて吸光度を測定した。

## 4．研究成果

近年、インスリンは軽度のアルツハイマー型認知症の治療に有効であるとの報告が見られるが、インスリンは高分子で分解されやすいペプチド性医薬品であるため、その脳移行性は大きく制限される。一方、薬物の経鼻投与においては、鼻腔から脳脊髄液への薬物の直接移行経路が存在することが知られており、血液 - 脳関門を介さない薬物の新たな脳への移行経路として注目されている。そこで本研究ではまずインスリンをマウスに経鼻投与し、経鼻投与後の脳への移行性について検討した。

その結果、インスリン単独でも一部が脳に移行することが確認でき、特に嗅球においてインスリンの濃度が高いことが認められた。一方、前脳においてもインスリンは検出されたが、後脳にはほとんど移行しないことが認められた。そこで、次にインスリンに吸収促進剤である *N*-アシルタウリンを併用して、インスリンの経鼻投与後の全身循環への移行性ならびに脳移行性の改善を試みた。その結果、各種 *N*-アシルタウリンのうち、LMT 及び CMT を併用してインスリンの脳移行性を検討したところ、これら吸収促進剤により血漿中インスリン濃度は顕著に上昇したが、インスリンの脳（嗅球、前脳、後脳）移行性は逆に低下することが認められた。このこと

から、これら吸収促進剤は、経鼻投与後のインスリンの血液中への移行性は増大させるものの、脳への移行性には効果が見られないことが明らかとなった。また、他の吸収促進剤としてカプリン酸関連化合物である PDD、Sefsol-218、Sefsol-228、DES-SP、DID、DIS をインスリンと併用した際も同様の結果が得られた。さらに、粘膜付着性を有する製剤添加物であるキトサン及びメチルセルロースを併用してもインスリンの脳移行性は低下した。

そこで、インスリンの経鼻投与後の全身循環への移行性を改善する点に焦点を絞り、*N*-アシルタウリン併用時のインスリンの経鼻吸収性を評価したところ、*N*-アシルタウリンの併用により血漿中インスリン濃度は上昇した。特に、用いた *N*-アシルタウリンの中では、CMT 及び LMT の吸収促進効果が大きく、これら吸収促進剤は、インスリンの経鼻吸収性を有意に増大させることが認められた。一方、これら吸収促進剤を鼻粘膜に投与した後の LDH 活性はほとんど変化せず、これら促進剤の消化管粘膜に対する安全性が確認された。

以上のことから、各種吸収促進剤は、インスリンの経鼻投与後の脳移行性を改善する効果は認められなかったものの、経鼻投与後のインスリンの全身循環への移行性改善に有用であることが示唆された。こうした知見は、インスリンの鼻腔内投与後の経鼻吸収性ならびに脳移行性を制御する上で有用な基礎的情報を提供するものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鶴飼裕紀、木村絵梨歌、小山未来、森下将輝、勝見英正、山本 昌
2. 発表標題 インスリン鼻腔内投与後の吸収性に及ぼすN-アシルタウリンの影響
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村絵梨歌、小山未来、鶴飼裕紀、森下将輝、勝見英正、山本 昌
2. 発表標題 各種N-アシルタウリン併用によるインスリンの経鼻吸収性の改善
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020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
研究分担者	勝見 英正  (katsumi hidemasa)  (30434666)	京都薬科大学・薬学部・准教授    (34306)	

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