様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ６ 月 １４ 日現在

機関番号：１３２０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2022～2024
課題番号：２２Ｋ０６７０９

研究課題名（和文）睡眠サイクルを考慮した経鼻脳薬物送達法の構築及び神経変性疾患治療戦略への応用

研究課題名（英文）Establishment of a Sleep Cycle-Oriented Intranasal Brain Drug Delivery System and Its Application to the Treatment of Neurodegenerative Disorders

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、神経変性疾患の薬物治療に貢献することを目的として、経鼻投与による脳への効率的な薬物送達技術の開発を行った。生体内の生理機能を考慮した高効率な脳送達法の考案と、経鼻投与型製剤の最適化から戦略的アプローチを試みた。生理状態としての睡眠／覚醒の差異が経鼻投与後の薬物脳移行性に与える影響を評価して、鼻－脳移行性を生理的側面から制御可能か否か現在検討を進めている。一方、製剤設計の最適化により、より効率的な鼻－脳薬物移行を達成可能な経鼻投与型製剤の開発に成功した。本製剤を用いることで神経変性疾患の発症に関連する慢性的脳内炎症の抑制が可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究は、超高齢化が進み世界的に急増している一方、根治的治療法の開発が遅れている神経変性疾患に対する新規薬物療法を提供することを目指した基礎的研究である。本研究は、神経変性疾患に対する治療薬開発でいまだ困難な課題である脳への薬物送達性を高める基盤技術の開発を目的としている。本技術が確立できれば中枢創薬の飛躍的発展に繋がる基礎的知見を提供できると思われ、その学術的意義は大きい。また得られた研究成果をさらに発展させることで、神経変性疾患に対する新たな薬物治療アプローチが創出できれば、社会的意義は大きいものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to develop an efficient drug delivery system to the brain via intranasal administration that could contribute to the treatment of neurodegenerative diseases. Specifically, it adopted a strategic, dual approach: (1) designing a highly efficient brain delivery method that takes into account physiological functions in vivo, and (2) optimizing intranasal formulations. It is currently investigating whether nasal-to-brain drug delivery can be controlled from a physiological perspective by elucidating the influence of a sleep/wake cycle on the brain distribution of drugs after intranasal administration. In parallel, it was successfully developed an optimized intranasal formulation capable of achieving more efficient nose-to-brain drug delivery. This formulation demonstrated the suppression of chronic neuroinflammation, which is associated with the onset of neurodegenerative diseases.

研究分野：薬物送達学、製剤学、薬物動態学

キーワード：経鼻投与　脳内薬物送達　中枢神経系疾患　製剤開発

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　C－１９、F－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

近年、世界的な高齢化社会を迎えて神経変性疾患が急増する一方で、特に、代表的な神経変性疾患であるアルツハイマー型認知症やパーキンソン病などはいまだ優れた根治的薬物治療法がない。さらに、中枢神経系疾患は今後、更なる超高齢化社会の急速な進行と高ストレス化社会により、急激な増加が見込まれており、喫緊の課題となっている。このように高いメディカルニーズが存在するにも関わらず治療薬の開発が困難な要因として、有効薬物量を標的部位である中枢目的領域へ送達できないことが挙げられる。中枢神経系疾患に対する薬物治療の場合、脳組織内へ薬物を送達する必要があるが、血液脳関門 (BBB) 等の関門系が生体バリアとして機能することで、脳への物質移動は厳密に制御されている。通常の投与経路では、循環血から脳への薬物移行性は乏しく、治療効果が得られる有効量の薬物を脳内送達することは困難である。

２．研究の目的

本研究では、血液を介さず BBB を迂回でき、直接的に脳組織へと薬物送達可能な経鼻投与経路による脳内薬物送達法を基盤とした中枢神経系疾患治療戦略の開発を進める。経鼻投与された薬物は、鼻腔内嗅神経領域から脳内へ直接的に送達される。鼻腔－脳薬物送達経路は、血液を介さない直接的移行経路であるため高い脳移行性を有し、BBB を回避した脳内送達ができる非侵襲的投与経路として注目されている (**図 1**)。実際、数多くの過去研究により鼻腔－脳薬物送達経路の有用性が示されており、低分子化合物に加え、ペプチドや核酸などの中分子化合物、抗体などの高分子化合物までもが鼻腔から脳へ直接送達されることが報告されている。一方、鼻腔は表面積が小さく投与量が制限されること、ヒト嗅神経領域は鼻腔表面積の 1-2%程度と小さいことから、十分な薬理効果を発揮できる脳移行量を得ることは難しい。そこで、経鼻投与を基盤とした中枢神経系疾患治療戦略を創出するためには、経鼻薬物送達法に十分な薬物送達能を付加する更なる工夫が必要となる。そこで本研究では、生体リズムである睡眠覚醒サイクルを考慮した新規概念による治療的アプローチに加え、経鼻製剤最適化による製剤化研究を行い、２面的アプローチを統合的に遂行することで、経鼻中枢神経系疾患治療システムとして確立する。

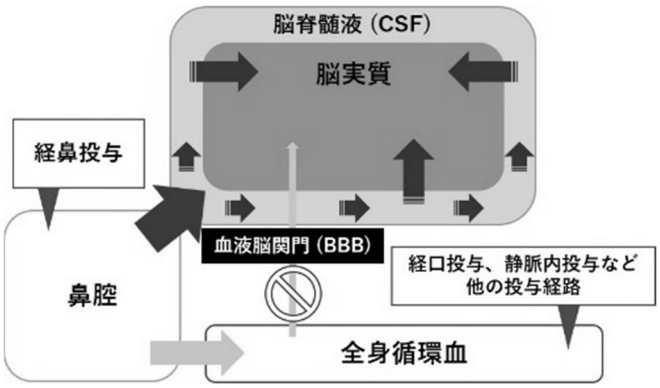

図 1　経鼻投与後の脳内薬物移行メカニズム

３．研究の方法

本研究では抗炎症薬のモデル薬物として ketoprofen を選択し、種々検討に使用した。

1.　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、実装化に耐えうる製剤開発を可能とするため、治療効果が得られる有効薬物量を脳送達できる新規経鼻投与型固形製剤の開発を試みた。

【処方設計】モデル薬物 ketoprofen の経鼻投与型製剤を調製するにあたり、固形製剤化に必要な添加剤成分を特定して、さらに処方最適化を図るため、添加成分の検討を行った。添加剤として高分子ポリマー、pH 調整剤、分散剤、アミノ酸など各種成分の有無、添加濃度を変えることで種々添加剤の影響を評価した。各種添加剤と ketoprofen を混合した後、固形製剤化して得られた各種製剤の経鼻適用性を評価した。

【経鼻適用性評価】

・鼻粘液に対する製剤溶解挙動評価：人工鼻粘液に対する各種製剤の溶出挙動を *in vitro* 鼻粘液溶出性評価システム（Inoue et al., Pharmaceutics, 2022）を用いて評価した。人工鼻粘液に ketoprofen 製剤を適用後、経時的に人工鼻粘液の一部をサンプリングして、人工鼻粘液中 ketoprofen 濃度を

定量することで、製剤の溶出挙動プロファイルを解析した。

・ヒト鼻腔内付着分布性評価：3D ヒト鼻腔モデルを用いて、調製した各種 ketoprofen 製剤を鼻腔モデルに適用後の分布性を評価した。鼻前庭部、鼻腔上部、鼻腔中部、鼻腔下部、鼻咽頭部に分けて各部位に付着した製剤を回収し、回収製剤中に含まれる ketoprofen 量から、各製剤の鼻腔内分布性を評価した。

・製剤の物性評価：調製した各種 ketoprofen 製剤の物性評価を行うため、走査型電子顕微鏡（SEM）による形態観察、粉末エックス線回析（PXRD）、粒子径分布測定を行った。

2. 経鼻投与後の *in vivo* 脳移行性評価

本研究で調製した製剤から上記検討により最適化した経鼻投与型 ketoprofen 製剤について、経鼻投与後の *in vivo* 脳移行性を評価した。

【*In vivo* 脳移行性評価】

Ketoprofen 製剤をラット鼻腔内に経鼻投与した後の薬物移行性評価を行った。ラット鼻腔内に製剤を適用して一定時間経過後に、脳脊髄液（CSF）、脳組織、血液をサンプリングした。得られた各組織中 ketoprofen 濃度を LC-MS/MS にて定量し、経鼻投与後の各組織中 ketoprofen 濃度推移を得た。コントロール群として、ketoprofen 溶液の経鼻投与群、ketoprofen 溶液の静脈内投与群を設定した。

【薬物動態学的解析】

経鼻投与後の脳移行性に関する薬物動態学的パラメータを算出した。得られた各種パラメータを比較評価することで、調製した経鼻投与型 ketoprofen 製剤の有用性を定量評価した。

４．研究成果

1．経鼻投与型固形製剤の開発

本研究で調製した各種 ketoprofen 製剤について、SEM 観察及び PXRD による物性解析を行った結果、ketoprofen が非晶質化して添加剤中に均一に分散したマイクロサイズの微粒子製剤を得ることに成功した。さらに、調製した ketoprofen 製剤の鼻粘液に対する溶出挙動を評価した結果、ketoprofen 原末と比較して、製剤化することで有意に高い溶解性が得られており、製剤化による ketoprofen の溶解性改善効果が示された。

さらに、ヒト鼻腔モデルを用いて経鼻適用後の鼻腔内分布を観察したところ、製剤化により、鼻腔に広く分布することが明らかとなった。さらに、特定の製剤においては、ターゲット部位である鼻腔上部への分布性が向上する結果が得られた。

本検討の結果から、本研究で創製した ketoprofen 製剤は、鼻粘液に対する溶出性が改善し、さらに、適用後の鼻腔内分布性が良好であることから、経鼻投与型製剤としての有用性を期待できる製剤であることが考えられた。

経鼻投与後の脳移行性評価

ラットに対して ketoprofen を経鼻投与した場合、溶液投与あるいは原末噴霧では、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 ketoprofen は難溶性薬物であるため、原末噴霧では鼻腔内の鼻粘液中に溶解せず、鼻粘膜を介した吸収及び鼻から脳への直接移行が困難であることが推察された。また、溶液投与では 20%程度の薬物吸収率を得ることができたが脳組織へはほとんど送達されなかった。これは ketoprofen の血液脳関門透過性が低いために、鼻粘膜吸収後、全身循環血から血液脳関門を介した脳への送達性が低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 ketoprofen では、製剤的工夫により製剤の鼻粘液溶出性が向上させることで、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された。実際、本研究で処方最適化した経鼻投与型 ketoprofen 製剤では経鼻投与後の脳送達性が高まることが明らかとなった。

慢性神経炎症モデルラットに対する炎症抑制効果

本研究で創製した経鼻投与型 ketoprofen 製剤を LPS 誘発神経炎症モデルラットに対して経鼻適用すると、脳内炎症を抑制する結果が得られた。同用量を投薬した経口投与群では、脳内炎症抑制効果が認められなかったことから、経鼻投与型 ketoprofen 製剤を利用することで効率的な脳内薬物送達が可能となり、その結果、慢性的な神経炎症を抑制できる可能性が示された。

本研究で得られた知見から、今後、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確立し、さらに、社会実装に向けた実用的ツールとなるように発展させる予定である。本研究を発展させることで、いまだ治療薬のない神経変性疾患に対する薬物治療戦略の創出を目指し、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2件（うち査読付論文　2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、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4件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

１．発表者名 井上大輔、瀬戸祥弘、藤 秀人
２．発表標題 鼻腔内生理環境を模倣したin vitro評価系の開発－製剤からの薬物溶出挙動に対する製剤粘性の影響
３．学会等名 第39回日本DDS学会学術集会
４．発表年 2023年

１．発表者名 Rikuto Shimada, Daisuke Inoue, Yoshihiro Seto, Hideto To
２．発表標題 Dissolution behavior analysis of solid formulations for nasal application under intranasal physiological environment
３．学会等名 APSTJ Global Education Seminar 2023-1st
４．発表年 2023年

１．発表者名 島田陸斗， 井上大輔， 瀬戸祥弘， 藤 秀人
２．発表標題 鼻粘液pHの生理的変動が弱酸性薬物含有粉末製剤の鼻腔内溶出挙動に与える影響
３．学会等名 日本薬学会第144年会
４．発表年 2024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