

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：34512

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16098

研究課題名（和文）鼻腔内投与によるオキシトシンの脳内送達ー脳脊髄液の循環と脳内動態制御の可能性ー

研究課題名（英文）The study on the brain uptake of oxytocin after intranasal administration -The effect of cerebrospinal fluid circulation-

研究代表者

田中 晶子 (Tanaka, Akiko)

神戸薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：30824320

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）：本研究は、脳細胞外液の流れ(Glymphatic System, GPsys)を制御することにより oxytocin(OXT)の鼻腔内投与後の脳送達効率を改善するDDS製剤を開発することを目的とした。AQP4阻害剤と報告のあるacetazolamide(AZA)をOXTと鼻腔内投与することにより、OXTの血中に対する脳内AUC比が、OXT単独投与群と比較して高値を示した。また、AZA投与により、AQP4の発現量の変化及び脳脊髄液(CSF)量の減少が観察され、AZAがGPsysに影響を及ぼしている可能性が示唆された。以上より、OXTの脳内送達に対してGPsysの影響が大きい可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳細胞外液の流れであるGlymphatic System (GPsys) が提唱され、薬物の脳移行経路にはGPsysの関与の可能性が指摘されているが、その影響は評価されていないのが現状である。本研究は、その情報を基盤とする鼻腔内投与型DDS開発を目的とし、OXTによる自閉症スペクトラム障害 (ASD) 治療に対して、画期的な治療システムを提唱できる可能性が高い。また、本研究はASD治療法の開発にとどまらず、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患などの脳疾患を対象としたペプチド・タンパク性医薬品による新規治療法の開発に大きく貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop DDS formulations that improves the efficiency of brain delivery after intranasal administration of oxytocin (OXT) by controlling the flow of extracellular fluid (Glymphatic System, GPsys). Intranasal administration of OXT and acetazolamide (AZA), which has been reported as an AQP4 inhibitor, showed that the ratio of brain AUC to blood AUC of OXT was higher than that after administration of OXT alone. In addition, changes in the expression level of AQP4 and a decrease in the amount of cerebrospinal fluid (CSF) were observed by AZA administration, suggesting that AZA may affect the flow of CSF. These results suggest that GPsys may have a significant impact on the delivery of OXT in the brain.

研究分野：生物薬剤学、薬物動態学

キーワード：鼻腔内投与 脳内送達 Glymphatic system oxytocin 自閉症治療

1. 研究開始当初の背景

自閉症スペクトラム障害 (autism spectrum disorder, ASD) は社会性の欠如、コミュニケーション障害などを中核とする脳機能障害であり、その患者は良好な対人関係の構築が難しく、通常の社会生活が困難である場合が多い。これまでの治療では、ASD に起因する不安やうつ、興奮などに対する対症療法が行われているに過ぎず、根本的な治療法は皆無である。このような状況の中で、近年、医師主導臨床試験により、海外において授乳促進の適応で承認されている oxytocin (OXT) の鼻腔内投与製剤が、ASD の症状に対して改善効果を示すことが報告された (参考文献①)。そこで、OXT を鼻腔内投与した後の脳移行性や体内動態を評価するとともに、薬理作用との関連を評価し、OXT の脳内送達に対する鼻腔内投与の有用性を既に明らかにした (参考文献②)。この研究を通じて、鼻腔内投与後の OXT 脳内移行量は投与量のわずか 0.01% であり、OXT の効率の良い脳内移行を目指した DDS (Drug Delivery System) 製剤の開発が急務であることが明らかとなった。脳内での薬物移行に影響を与える因子として、glymphatic system (GPsys) が報告されている。GPsys とは、CSF が動脈血管周辺部から脳実質内へと流入し、アクアポリン 4 (AQP4) により細胞内へと取り込まれ、静脈血管周辺部から脳表面へ流出される脳細胞外液の循環システムである。鼻腔から脳への薬物移行性を検討している報告はいくつかあるものの、脳内移行後の薬物の脳内動態に関する情報は皆無である。したがって、まず、GPsys の脳内動態に対する影響と薬物の物性との関係を明らかにした上で、その情報に基づいた、CSF の循環を制御可能な DDS 製剤の開発が必要である。本研究では、モデル薬物を用いた系統的な脳内動態の評価を行い、CSF 循環の制御による OXT の脳実質内移行性の向上により脳内送達効率を高めた新たな DDS 製剤を開発し、OXT による ASD 治療の量的、質的な向上を目指す。

2. 研究の目的

基礎的な情報として、物性の異なるモデル薬物を用いた系統的な脳内動態の評価を行う。さらに、OXT による ASD 治療の量的、質的な向上を目指して、CSF 循環の制御による OXT の脳実質内移行性を高めた新たな DDS 製剤を開発する。

3. 研究の方法

(1) 鼻腔内投与後の脳移行性に対する薬物の物性の影響

ddY 雄性マウスに、モデル薬物 (高膜透過薬物、低膜透過性薬物) を鼻腔内投与あるいは腹腔内投与した。そして、経時的に採血するとともに、脱血灌流し、脳を採取した。採取した脳を嗅球、脳前半部、脳後半部の 3 つの部位に分け、血漿中薬物濃度及び脳内濃度を LC/MS により測定し、直接移行率 DTP (Nose-to-Brain Direct Transport Percentage) を算出した。

(2) 鼻腔から直接脳へ移行した薬物の脳内動態に対する薬物の物性の影響①

Microdialysis (MD) 法を用いて評価した。3 種混合麻酔下、Wistar 系雄性ラットの嗅球および脳後部のガイドカニューレを介して、プローブ先端部を固定した。薬液を嗅球プローブへ 5 min 注入した。脳後方部プローブは PBS を灌流し、流出液を 10 min あるいは 20 min 毎に回収するとともに、経時的に採血をした。血漿中濃度及び回収液濃度は LC/MS により測定した。

(3) 鼻腔から直接脳内移行した薬物の脳内動態に対する薬物の物性の影響②

(1) と同様に MD 法を用いて評価した。3 種混合麻酔下、Wistar 系雄性ラットの大脳前頭葉部プローブへモデル薬物を 5 min 注入した。投与 15 min あるいは 30 min 後に脱血灌流を行い、脳の部位分けを行った。採取した脳は、嗅球、線条体、視床、視床下部、海馬、中脳に分け、大脳は前頭葉、頭頂葉、側頭葉、後頭葉に分けた。各脳内濃度は LC/MS により測定した。

(4) AQP4 阻害薬併用時の OXT および併用薬物の脳内移行性の評価

AQP4 阻害剤と報告のある acetazolamide (AZA) を OXT と共に ddY 雄性マウスに鼻腔内投与し、そして、経時的に採血するとともに、脱血灌流し、脳を採取した。採取した脳を嗅球、脳前半部、脳後半部の 3 つの部位に分け、血漿中薬物濃度及び脳内濃度を LC/MS により測定し、血中 AUC に対する脳内 AUC 比を算出した。

(5) AQP4 阻害薬の脳内への影響

AZA を ddY 雄性マウスに鼻腔内投与し、所定の時間で脱血灌流し、脳を採取した。採取した脳の AQP-4 発現量を RT-PCR により測定した。また、AZA を Wistar 系雄性ラットに静脈内投与し、大槽穿刺法により CSF 量を評価した。

4. 研究成果

(1) 鼻腔内投与後の脳移行性に対する薬物の物性の影響

高膜透過性薬物の血漿中濃度は、腹腔内投与後と比較して鼻腔内投与では、若干低い値となったものの、大きな相違は観察されなかった。また、脳内濃度は、嗅球において、腹腔内投与と比較して鼻腔内投与で高い値を示した一方で、脳前半部、脳後半部では、腹腔内投与の方が高くなった。低膜透過性薬物の血漿中濃度は、鼻腔内投与よりも腹腔内投与の方が高い値を示した。一方、脳内濃度は、嗅球、脳前半部、脳後半部のいずれにおいても腹腔内投与よりも鼻腔内投与の方が高い値となった。これらの結果を用いて、DTP を算出したところ、高膜透過性薬物では嗅球で 50.1%、脳前半部、脳後半部では 0% という結果に対し、低膜透過性薬物ではすべての部位で 99% を超える結果となり、低膜透過性薬物の方が直接移行の寄与が大きいことが示された。

(2) 鼻腔から直接脳内移行した薬物の脳内動態に対する薬物の物性の影響①

高膜透過性薬物の血漿中濃度は、実験開始 15 min で高くなり、その後緩やかに低下した。高膜透過性の薬物では、脳組織から血液への吸収の寄与が大きく、拡散されながら血液に吸収されたと考えられる。脳後方プローブ濃度は、180 min までほぼ一定であった。一方、低膜透過性薬物の血中濃度は 2 峰性が観察された。脳後方プローブ濃度は投与開始から 100 min 前後は高い値を示したが、それ以降の濃度は低く、大きな変動は観察されなかった。この結果より、大脳前頭葉に投与された膜透過性の低い薬物の脳内移動は比較的速く、脳内における移動の速さは拡散等の現象で説明することが不可能と考えられ、CSF の流れに乗って脳内を移動する可能性が示唆された。一方、膜透過性の高い薬物の脳内移動は、CSF の流れと比較して拡散等の現象の寄与が大きく、細胞内への取り込みと排出を繰り返しながら、脳内を緩やかに移動する可能性が示唆された。

(3) 鼻腔から直接脳内移行した薬物の脳内動態に対する薬物の物性の影響②

高膜透過性薬物を注入した大脳前頭葉と嗅球を除いて全ての脳部位において脳移行量に大きな相違は観察されなかった。また、15 min と 30 min での脳内濃度はほぼ同じであった。このことから、膜透過性が高い物性をもつ薬物は、細胞内への取り込みと排出を繰り返しながら、脳内を緩やかに移動する可能性が示唆された。一方、低膜透過性薬物では、15 min における脳移行量と比較して、30 min では増加した。また投与部位である大脳前頭葉から近い線条体、大脳頭頂葉は脳移行量が大きく増加した。一方、投与部位から離れている大脳後頭葉、海馬、中脳に関しては、他の脳部位と比較して脳移行量が低い値を示した。以上より、(2)と同様、低膜透過性薬物は脳組織間での移動が遅く GPsys の影響を受けやすいと考えられ、一方、高膜透過性の薬物は細胞内への取り込みと排出を繰り返しながら、脳内を緩やかに移動することが示唆された。

以上、(2)及び(3)より、薬物の物性が脳内動態に大きく影響を与えていることが示された。また、OXT は低膜透過性薬物と同じ動きを示すと考えられ、脳細胞外液の流れに沿って脳内を早く移行できる可能性が示唆された。

(4) AQP4 阻害薬併用時の OXT の脳内移行性の評価

AZA 併用群の血漿中薬物濃度は、OXT 単独投与群と比較して若干ではあるが高い値を示した。また、脳内濃度は、OXT 単独投与群と比較して嗅球、脳前半部、脳後半部ともに高い値を示し、また投与 15 min 後に C_{max} を示した後は早い消失が観察された。OXT の血中 AUC に対する脳内 AUC 比を算出したところ、AZA 併用群は OXT 単独投与群と比較して高く、脳移行性が改善されることが示された。

(5) AZA 投与による AZA 発現量及び CSF 量の評価

AZA の投与すぐに発現量は低下し、その後 120 min にかけて高くなり、240 min 後には元のレベルに戻った。また、CSF 量も、投与後すぐに減少が観察された。したがって、AQP4 発現量の変化及び CSF 量の低下が OXT の脳移行性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

以上のことから、OXT の脳内送達に対して GPsys の影響が大きく、CSF の流れを制御することにより OXT の脳内送達効率を改善できる可能性が示された。

<引用文献>

- ① T. Watanabe, M. Kuroda, H. Kuwabara, Y. Aoki et al., Clinical and neural effects of six-week administration of oxytocin on core symptoms of autism. *Brain*, 138, 3400-3412, 2015.
- ② A. Tanaka, T. Furubayashi, M. Arai et al., Delivery of oxytocin to the brain for the treatment of autism spectrum disorder by nasal application. *Mol. Pharm.*, 15, 1105-1111, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akiko Tanaka, Akiko Kiriya, Ayaka Sano, Cho Changung, Hidemasa Katsumi, Akira Yamamoto, Tomoyuki Furubayashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Left-Right Difference in Brain Pharmacokinetics Following Nasal Administration Via One-Site Nostrils	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Science	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xphs.2024.05.003.	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13件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中晶子、曹 昌雄、勝見英正、山本 昌、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 Oxytocin 鼻腔内投与後の脳移行に対するGlymphatic System の影響
3. 学会等名 第40回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 曹 昌雄、田中晶子、森崎桃子、勝見英正、岩永一範、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 Oxytocin 鼻腔内投与後の脳内動態に対するGlymphatic System の影響
3. 学会等名 日本薬学会第39年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 曹 昌雄、田中晶子、岩永一範、勝見英正、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 Oxytocin 鼻腔内投与後の脳内動態に対するGlymphatic System の影響
3. 学会等名 第74回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中晶子、曹 昌雄、勝見英正、山本 昌、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 Oxytocin 鼻腔内投与後の脳移行に対するGlymphatic System 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 山添穂幸、田中晶子、井上大輔、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔内投与後の薬物の脳内移行性：Microdialysis法による評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中晶子、谷口貴子、西野真由、井上大輔、勝見英正、山本 昌、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔内投与によるoxytocinの脳内送達－Glymphatic systemの影響－
3. 学会等名 第38回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中晶子、越路亜莉紗、井上大輔、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔内投与によるOxytocinの脳への移行と移行後の脳内動態
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 田中晶子、佐野綾香、井上大輔、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔-脳間の直接的な薬物移行機構の解析：投与部位と脳内濃度との関係
3. 学会等名 日本薬学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 越路亜莉紗、田中晶子、井上大輔、勝見英正、山本 昌、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔内投与された Oxytocin の脳内移行特性
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 秋村夏花、田中晶子、井上大輔、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：投与剤形と薬物物性との関係
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 西川絵理、田中晶子、山本友里、濱谷涼花、井上大輔、古林呂之、坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔より直接脳内へ移行した薬物の脳内動態
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 田中晶子, 佐野綾香, 井上大輔, 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機構の解析：脳内移行の左右差
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 田中晶子, 井上大輔, 古林呂之, 坂根稔康
2. 発表標題 鼻腔内投与によるペプチドの脳内送達：鼻腔から脳への移行機構と移行後の脳内送達
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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