

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：34512

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06700

研究課題名(和文) 自閉症スペクトラム障害の新規治療法の開発：鼻腔内投与によるオキシトシンの脳内送達

研究課題名(英文) The development of the novel therapy on autism spectrum disorder: The direct delivery of oxytocin to the brain by nasal application

研究代表者

坂根 稔康 (Sakane, Toshiyasu)

神戸薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：50215638

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、鼻腔と脳との間の直接的な薬物移行経路を活用して、オキシトシン(OXT)の効率的な脳内送達を実現し、自閉症スペクトラム障害に対するより有効な治療法を開発することを目的とする。鼻腔内投与後のOXTの吸収、脳移行、脳内動態およびそれらに影響を与える因子について、動物実験を中心に検討を行った。OXTの脳移行に対して、鼻腔から脳への直接移行の寄与が高く、OXTは効率よく鼻腔から脳に移行していること、さらに、脳細胞外液の循環システムであるGlymphatic systemを制御することにより、OXTの脳内からの消失の遅延を介して、OXTの脳内濃度の増大と持続を実現できる可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、自閉症スペクトラム障害(ASD)の治療は、付随する不安やうつなどに対する対症薬物治療が実施されているに過ぎず、社会性の欠如、コミュニケーション障害、限定された興味等の中核症状に対する治療薬は存在しない。医師主導臨床試験で、オキシトシン(OXT)の鼻腔内投与製剤が、ASDの中核症状に対する治療薬となる可能性が指摘され、ASD治療薬の開発に対する期待が高まっている。本研究成果は、医師主導臨床試験の結果をもとに、OXTの鼻腔内投与製剤によるASDの治療システムの有効性を改善し、臨床応用を実現するための基礎的情報として、きわめて重要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop a more effective treatment for autism spectrum disorders by utilizing a direct drug transport pathway from the nasal cavity to the brain to achieve efficient brain delivery of oxytocin (OXT). The absorption, brain transfer, and brain dynamics of OXT after intranasal administration, as well as the factors that affect them, were examined. It was clarified from animal studies that OXT is efficiently transferred from the nasal cavity to the brain through the direct pathway, contribution of which to the total brain uptake of OXT is high. The regulation of the Glymphatic system, the circulatory system of extracellular fluid in the brain, allows increased and sustained concentration of OXT in the brain after nasal administration, through delaying the elimination of OXT from the brain.

研究分野：薬物動態学

キーワード：オキシトシン 自閉症スペクトラム障害 脳 glymphatic system 鼻腔内投与

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 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) は神経発達症群に分類される診断名の一つであり、社会性の欠如、コミュニケーション障害、限定された興味等を中核とする脳機能障害である。現在、ASD に起因する不安やうつなどに対して、抗うつ薬などによる治療が行われているが、ASD の中核症状に対する治療薬は存在しない。

Oxytocin はアミノ酸 9 個からなるホルモンで、視床下部で合成され、下垂体後葉から分泌される。臨床現場では、子宮収縮や陣痛促進を目的として使用されている一方で、oxytocin は、幸せホルモン、愛情ホルモンとも呼ばれ、ストレスを緩和し、幸福感をもたらすことが知られている。近年、医師主導臨床試験により、oxytocin の鼻腔内投与製剤がヒト ASD の中核症状に対して改善効果を示すことが報告された。

鼻腔はペプチド性医薬品の投与部位として、注目を集めているが、同時に、脳、脳脊髄液 (cerebrospinal fluid, CSF) との直接的なつながりを示唆する事実が多く報告されており、脳への直接的な薬物送達を可能にする投与部位として、認識されつつある。上述の医師主導臨床試験においても、鼻腔内投与された oxytocin の一部が直接脳に移行した可能性が考えられる。oxytocin の鼻腔内投与製剤による ASD の治療を実現するためには、鼻腔内投与後の oxytocin の脳移行動態、さらに鼻腔から脳内に移行した後の脳内動態等に関する基礎データが必要不可欠と考えられるが、鼻腔内投与後の oxytocin の吸収や脳移行動態に関する情報はきわめて少ない。

本研究では、oxytocin の脳内における動態を制御する可能性を探るために、glymphatic system (GPsys) に注目する。GPsys とは、CSF と脳細胞外液のマクロな循環システムである。血管の脈動を駆動力として、脳表面クモ膜下腔の CSF が動脈周辺部を介して、脳内深部に到達する。神経細胞の細胞膜に発現する水分子チャンネル aquaporin 4 (AQP4) を介して、水が細胞内を通り抜けた後、静脈周辺部を介して、脳表面に戻るという循環である。鼻腔内投与された薬物は、まず、脳表面の CSF に移行すると考えられ、CSF に移行した薬物が GPsys により、脳内深部へと移行することで、その脳内分布が拡大する可能性が考えられる。種々の薬物が CSF の分泌を阻害し、AQP4 の機能に影響を与えることで、GPsys の機能が変動することが報告されている。oxytocin の効率的な脳内送達に対して、GPsys の影響に関する情報は重要であるが、薬物の脳内動態に対する GPsys の影響に関する詳細な情報は皆無である。oxytocin の脳内動態に対する GPsys の影響を明らかにすることにより、GPsys の制御による oxytocin 脳内動態の最適化の可能性を期待することができる。

### 2. 研究の目的

本研究では、ASD に対するより有効な oxytocin による治療法を開発することを目的とする。鼻腔内投与により、効率よく oxytocin を脳内に直接送達するために、以下の 2 項目を検討し、治療法確立のために必要な情報を得る。

- (1) 薬物の生体膜透過性と鼻腔内投与後の脳内送達効率との関係
- (2) 鼻腔から脳内に移行した oxytocin の脳内動態と GPsys の影響

### 3. 研究の方法

- (1) 薬物の生体膜透過性と鼻腔内投与後の脳内送達効率との関係

2 種類のモデル薬物 (antipyrine : 高い膜透過性、ranitidine : 低い膜透過性) を用いた。モデル薬物を鼻腔内投与後の脳内濃度、血漿中濃度を経時的に測定し、脳移行性を比較した。あわせて、

鼻腔から脳内に移行した後の薬物の脳内動態を microdialysis 法 (MD 法) を用いて、評価した。ラットの嗅球、大脳に MD プローブを埋設し、嗅球埋設プローブに薬液を注入することで、嗅球に薬物を投与した。同時に、大脳に埋設したプローブより、薬物を回収し、大脳における細胞外液の薬物濃度の経時変化を測定した。

#### (2) 鼻腔から脳内に移行した oxytocin の脳内動態と GPsys の影響

GPsys の阻害剤として、acetazolamide を用いた。acetazolamide は炭酸脱水酵素の阻害剤であるが、CSF の分泌及び AQP4 を阻害することが知られている。

マウスに acetazolamide を経口投与し、その 30 分後に oxytocin を鼻腔内投与し、血漿中濃度及び脳内濃度を経時的に評価した。また、PCR 法により AQP4 の遺伝子発現を評価し、大槽穿刺法により、CSF を採取した。

血漿、組織に含まれる薬物の定量は全て、適切な前処理を行った後、LC/MS を用いて行った。

### 4 . 研究成果

#### (1) 薬物の生体膜透過性と鼻腔内投与後の脳内送達効率との関係

antipyrine, ranitidine をマウスの鼻腔内または腹腔内に投与し、血漿中濃度と脳内各部位(嗅球・脳前半部・脳後半部)における濃度の経時変化を測定した。鼻腔内投与後の antipyrine の血漿中濃度と脳内濃度は、腹腔内投与後と比較して低かった。一方、ranitidine を鼻腔内投与した場合、腹腔内投与と比較して、血漿中濃度は低かったが、脳内濃度は高く、嗅球が最も高い値を示した。したがって、antipyrine 等の膜透過性が良好な薬物と比較して、ranitidine 等の膜透過性に乏しい薬物は、鼻腔内投与後の脳内移行に対して、鼻腔からの直接移行の寄与が大きいことが明らかとなった。

次に、脳内に移行した後の脳内薬物動態を検討した。MD 法による検討の結果、膜透過性の低い薬物の脳内の移動は比較的、速やかであったが、膜透過性が良好な薬物は細胞内への取込みと排出を繰り返しながら、緩慢に脳内を移動する可能性が示唆された。

oxytocin の膜透過性は ranitidine に類似すると考えられることから、本知見より、oxytocin は鼻腔内投与後、効率良く、脳内に移行し、速やかに脳細胞外液内を移行し、脳から消失する可能性が示唆された。

#### (2) 鼻腔から脳内に移行した oxytocin の脳内動態と GPsys の影響

鼻腔内投与後の oxytocin 脳内濃度は、acetazolamide の前投与によって、有意に増大した。AQP4 の遺伝子発現を PCR 法により評価したところ、遺伝子発現は一過性の低下の後、増大することが明らかとなった。acetazolamide により阻害された AQP4 の機能を代償するために、遺伝子発現が増大したものと考えられる。また、CSF を採取したところ、採取可能な CSF 量が低下し、acetazolamide の CSF 分泌阻害により、脳内の CSF 体積が減少している可能性が示唆された。得られた知見は、acetazolamide の投与に伴う oxytocin 脳内濃度の増大は、GPsys の阻害による oxytocin の脳内からの消失の遅延に起因することを示唆すると考えられる。

以上、GPsys は oxytocin の脳内動態に多大な影響を与えていることが明らかとなった。GPsys の制御を通じて、oxytocin の脳内送達を高めることが可能で、より有効な治療法の開発に対して、GPsys の制御が有用であることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>加藤比奈子、田中晶子、井上大輔、古林呂之、坂根稔康                      |
| 2. 発表標題<br>鼻腔-脳間の直接的薬物移行経路を利用した薬物の脳内送達 - 薬物の物性と投与剤形との関係 - |
| 3. 学会等名<br>日本薬剤学会第36年会                                    |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>日本薬剤学会第36年会                       |
| 4. 発表年<br>2021年                              |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>鼻腔内投与された Oxytocin の脳内移行特性          |
| 3. 学会等名<br>第37回日本DDS学会学術集会                    |
| 4. 発表年<br>2021年                               |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>阪上結、田中晶子、高山健太郎、井上大輔、古林呂之、坂根稔康                     |
| 2. 発表標題<br>中分子ペプチドを利用した新規肥満治療法の開発：鼻腔内投与後の脳移行性に対するペプチドの安定性の影響 |
| 3. 学会等名<br>日本薬剤学会第37年会                                       |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>日本薬剤学会第37年会                         |
| 4. 発表年<br>2022年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>鼻腔内投与によるoxytocinの脳内送達 - Glymphatic systemの影響 - |
| 3. 学会等名<br>第38回日本DDS学会学術集会                                |
| 4. 発表年<br>2022年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>第39回日本DDS学会学術集会                              |
| 4. 発表年<br>2023年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>第74回日本薬学会関西支部総会・大会                            |
| 4. 発表年<br>2023年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>Oxytocin 鼻腔内投与後の脳内動態に対するGlymphatic System の影 |
| 3. 学会等名<br>日本薬剤学会第39年会                                  |
| 4. 発表年<br>2024年   |

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

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|
|---------|---------|