

## 虚血性脳梗塞に対する薬物の経鼻投与経路の有用性

研究代表者 ○鈴木豊史(薬剤学研究室)

益子 崇、鈴木直人

**【背景】** 健康寿命とは「健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間」と定義されており、平均寿命と健康寿命との差は、日常生活に制限のある「健康ではない期間」を意味する。この差は支援や介護を必要とする期間として、その健康寿命は平均寿命より女性で約12年、男性で約9年短いことが知られている(平均寿命:平成25年度厚生労働省「簡易生命表」、健康寿命:平成25年度厚生労働省「国民生活基礎調査」をもとに算出)。したがって、この差を薬物治療によって短縮することができれば、個人の生活の質の低下を防ぐとともに、社会保障負担の軽減が期待できる。脳血管疾患は治療後も、多くの場合に後遺症を伴うことが知られており、要介護第1位の疾患である(厚生労働省「国民生活基礎調査(平成25年)」、平成29年(2017)内閣府「3. 高齢者の健康・福祉」)。その脳血管疾患の約60%を虚血性脳梗塞が占めている(厚生労働省、平成29年(2017)「人口動態統計月報年計(概数)の概況」)。脳梗塞初期には静脈投与される組織プラスミノゲン活性化因子による血栓溶解療法が可能であり、発症から早期に治療することにより後遺症も残らず治癒する。しかし、血栓溶解療法は発症後4.5時間以内の治療可能時間等の制限から、その適用患者はわずか5%にすぎない。このような状況を打破し、寝たきり・介護患者を減らすために、虚血性脳梗塞に対する経鼻投与の優位性と有効性を先駆的に実証することは、超高齢化社会にとって緊急度の高い最優先課題である。

我々は、これまでに虚血性脳梗塞の治療に焦点をあてた研究を推進してきた(Masuko T, Suzuki T, *et al*, *Neurosci Lett*, 2012)。鈴木らはマウス中大脳動脈閉塞再灌流モデルを用いて、虚血時間による血液脳関門の破綻の程度と分子サイズ依存的な物質透過性の変化を定量的に明らかにしている(Suzuki T, *et al*, *Acta Neurochir Suppl*, 2013)。また益子らは、科学技術振興機構研究最適展開支援プログラムシーズ顕在化タイプの支援のもとで、虚血性脳梗塞におけるNMDA受容体(NMDAR)と酸感受性イオンチャネル(ASIC1)を分子標的とするビッグアニド誘導体の創薬開発研究を展開してきた。我々が最適化した新規の候補化合物(MS-508)は、虚血再灌流後12時間に腹腔内投与で脳保護効果が認められ、臨床で使用されている脳保護薬エダラボンや血栓溶解薬組織プラスミノゲン・アクチベータ(t-PA)と比較して、低用量で治療可能時間が4.5時間から顕著に延長する飛躍的な成果をあげてい

る(日経産業新聞、2014.10.30.)。経鼻経路は自己投与が可能であり、鼻粘膜からの急激な吸収によりその効果の発現が早いことから、救急搬送中でも早期の治療が可能となり、その社会的意義は大きいと考えられる。

**【目的】** 本研究の目的は、経鼻投与による鼻から脳への薬物移行を定量的に明らかにし、虚血性脳梗塞に対する経鼻投与ルートの特長性ならびに有効性を実証することである。近年、血液脳関門 (blood-brain barrier; BBB) の透過が困難である水溶性高分子だけでなく、抗うつ薬や鎮痛薬のようにBBBを透過できる脂溶性低分子薬物であっても、それらの欠点(例えば、低いバイオアベイラビリティや胃腸障害のような全身性副作用など)を克服するための、新たな投与経路として経鼻投与が注目されている。麻薬拮抗薬ナロキソン(NLX)は適度な脂溶性(LogP: 1.35)を有する低分子量(MW: 328)弱塩基性薬物(pKa: 9.12)である。これまでに循環血液中から脳内へのNLXのBBB取り込み輸送機構は報告されている(Suzuki T, *et al*, *Biopharm Drug Dispos* 2010)が、その経鼻投与後の脳への分布推移は明らかではない。また、NLXの脳室内投与あるいは腹腔内投与は、ラット中大脳動脈閉塞による急性期脳梗塞における脳神経保護効果を示すことが報告されている(*Neurosci Lett*, 2003; *Neuro Rep*, 2001; *Neurosci Lett*, 2000)。そこで、本研究ではNLXをマウスに経鼻投与後の薬物脳内分布挙動と急性期脳虚血障害マウスに対するNLXの脳神経保護効果について検討した。

**【方法】** 動物実験は、日本大学動物実験運営内規に基づいて実施した(AP16P009・AP16P013)。投与溶液は、投与量として10 mg/kgになるように<sup>3</sup>H標識NLXに非標識体NLXを添加することで調製した。マウスに経鼻投与後、一定時間に摘出した大脳部、嗅球、三叉神経及び血漿中の放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。経鼻投与には、マイクロピペットによる投与方法と当研究室で新規に確立したマウス食道逆挿管鼻腔内投与方法を用いた(Kanazawa T, Suzuki T, *et al*, *JoVE, in press*, 2018)。脳虚血再灌流障害マウスは、光化学誘導血栓法により作成した。脳梗塞に対する脳神経保護効果は、脳虚血30分後から生じる梗塞巣の増大に対して、薬物処理後に梗塞巣を縮小した体積についてトリフェニルテトラゾリウムクロライド(TTC)染色法により算出することで評価した。鼻腔内投与後の脳組織切片中の脳内薬物分布イメージング分析には、飛行時間型二次イオン質量分析(ToF-SIMS)を用いた。

**【結果および考察】** NLXの鼻腔内投与は投与した全薬物量に対する大脳組織で検出された薬物量の割合(%ID/g brain)が、静脈内投与した場合と投与後60分まで同等な推移を示

した。脳への全薬物送達量に対する鼻から脳への直接経路の寄与率 (direct transport percentage; %DTP) は約 50-60% と見積もられたことから、経鼻投与により脳内に移行した薬物の約 40-50% は BBB を透過しているものの、嗅球ならびに三叉神経を介して脳内に直接移行する経路の関与が示唆された。NLX (10 mg/kg) をマイクロピペットで経鼻投与した脳虚血マウスの梗塞巣体積は、生理食塩水を腹腔内投与した群や薬物を腹腔内投与した群よりも顕著な抑制が認められたものの、その脳神経保護効果は同一の投与量を静脈内投与した場合に匹敵するものであった。NLX の鼻腔内投与 15 分後に薬物分子に由来するフラグメントイオンについてマッピングを行ったところ、鼻からの脳への薬物移行量のレベルは脳組織切片において検出限界以下であった。今後、薬物の投与量を増加するなど検討していく必要がある。以上のことから、虚血性脳梗塞に対する BBB 透過性薬物の経鼻投与経路の有用性を明らかにした。経鼻投与は虚血性脳梗塞を標的とする治療薬の優れた投与経路となる可能性を有しており、中枢疾患を標的とする薬物の静脈内投与にかわる利便性の高い投与経路となり得ることが示唆された。

**【今後の展望】** 本研究は、現在画期的な治療法や治療薬の少ない虚血性脳梗塞に対して、先駆的な治療投与経路の開拓に向けた基礎的知見を提供するものである。今後、鼻から脳への薬物送達経路は、繰り返し自己投与が可能であることから、慢性中枢神経疾患に対する非侵襲的治療戦略となる可能性を秘めている。

**【謝辞】** 本研究は、平成 29 年度日本大学薬学部共同研究助成金により行われ、多大なご支援をいただきましたことに、心より御礼を申し上げます。また、本研究の遂行に協力いただいた金沢貴憲 専任講師、現 6 年生の樋口優美さん、畑山真佑佳さん、現 5 年生の浅見亜紀子さん、仁藤裕也くん (以上、薬剤学研究室) ならびに機能形態学研究室の皆様感謝いたします。

**【成果報告】** 本研究で得られた研究成果の一部は、日本薬学会第 138 年会 (2018 年 3 月 27 日、金沢)、日本薬剤学会第 33 年会 (2018 年 6 月 1 日、静岡)、第 34 回日本 DDS 学会学術集会 (2018 年 6 月 21 日、長崎)、第 34 回日本薬学会関東支部大会 (2018 年 9 月 15 日、東京)、創剤フォーラム第 24 回若手研究会 (2018 年 9 月 22 日、神戸) および平成 30 年度第 29 回日本大学薬学部学術講演会 (2018 年 11 月 3 日、千葉) において口頭またはポスター発表した。

(2018/11/07)