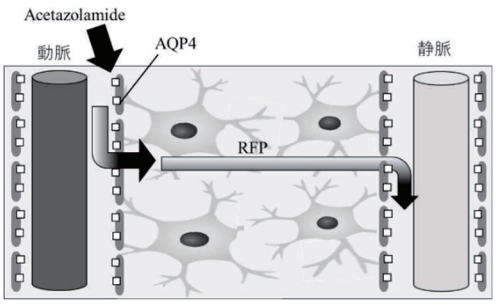
213　脳脊髄液循環制御に基づく脳内DDSによる認知症治療	田中　晶子

【目的】超高齢化社会を迎え、アルツハイマー型認知症やパーキンソン病などのアンメットメディカルニーズの高い中枢神経系領域の患者数の増加が大きな社会問題となっている。抗生剤 rifampicin（RFP）は、ドラッグリポジショニングにより認知症に対する新しい治療薬・予防薬開発戦略として期待される。しかしながら、RFP の分子量は約 800 と大きく、RFP の脳への移行が課題の一つである。薬物を脳内へ送達する方法として、近年、鼻腔内投与が注目されており、鼻腔と脳組織、脳脊髄液（cerebrospinal fluid : CSF）との直接的な繋がりを示唆する実験事実が多く報告されている。さらに、鼻腔内投与による脳内への薬物送達の効率化を目指して、脳細胞外液の循環システムである glymphatic system（GPsys）に注目した。本研究では、基礎的検討として 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、GPsys に影響を与えると考えられる acetazolamide（AZA）併用時の RFP の脳移行性について評価することにより、脳脊髄液の循環を制御することによる新たな脳内薬物送達法を明らかにすることを目的とした（下図）。

【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：モデル薬物として膜透過性の高い antypirine（ANP）および膜透過性の低い ranitidine（RNT）を選択した。マウスに各薬液を腹腔内および鼻腔内投与し、経時的に採血および脳を採取した。採取した脳は嗅球、脳前半部、脳後半部の 3 つの部位に分け、LC／MS により定量を行った。また、microdialysis（MD）法を用いて、大脳前頭葉部及び脳後方部にプローブを埋設し、大脳前頭部のプローブより薬液を投与後、脳後方のプローブの流出液中の薬物濃度を測定することにより、脳前方から脳後方への薬物移行性を評価した。2. AZA 鼻腔内投与後の脳内における AQP4 発現および CSF 量への影響：マウスに AZA を鼻腔内投与し、5 分後に脳を採取した。RT-PCR 法により脳中の AQP4 の発現を定量し、非投与群と比較した。また、ラットに AZA を鼻腔内投与した後の CSF を大槽穿刺法により採取し、CSF 量を非投与群と比較した。3. AZA 含有 RFP 溶液鼻腔内投与後の脳への移行性評価：マウスに、^{3}H 標識 RFP 溶液あるいは^{3}H 標識 RFP＋AZA 溶液を投与し、経時的に採血および脳を採取し、液体シンチレーションカウンターにより測定した。

【結果】ANP の直接移行率は、嗅球で約 40%、脳前半部、脳後半部では 0%という結果に対し、RNT ではすべての部位で 99%を超えたことから、膜透過性の低い薬物は鼻腔から脳への直接移行の寄与が大きいことが明らかとなった。また、MD 法により、RNT のような膜透過性の低い薬物は脳前方部に投与された薬物の脳内移動は比較的速いことが明らかとなった。次に AZA の影響を評価したところ、鼻腔内投与後の AQP4 発現量は非投与群と比較して、1.5 倍となった。AZA は AQP4 を阻害するという報告もあり、この結果に対してはより詳細に検討する必要がある。CSF 量は、非投与群より AZA 鼻腔内投与群は約 20%減少することが明らかとなり、この CSF 量の減少に関しては AQP4 の発現量の変化が関与している可能性があると考えられる。最後に脳移行性の評価をしたところ、AZA＋RFP 溶液投与群は RFP 溶液投与群と比較して、血漿中濃度が低くなった一方で、脳内濃度は高い値を示した。鼻腔から脳へ直接移行した際に AZA 投与により CSF 量が減少したため、CSF 中で薬物濃度が高まった可能性が示唆された。以上のことから、脳脊髄液循環を制御することにより、RFP の脳移行性を高める可能性が示された。

本研究の概念図



213. 脳脊髄液循環制御に基づく脳内 DDS による認知症治療

田中　晶子

神戸薬科大学 製剤学研究室

Key words：脳デリバリー，鼻腔内投与，Glymphatic System，rifampicin，認知症治療

緒　言

超高齢化社会を迎え、アルツハイマー型認知症やパーキンソン病などのアンメットメディカルニーズの高い中枢神経系領域の患者数の増加が大きな社会問題となっており、その対策は急務とされている。認知症治療薬として現在臨床で用いられている薬剤として、コリンエステラーゼ阻害薬であるドネペジル（アリセプト®）、リバスチグミン（イセクロンパッチ®）、ガランタミン（レミニール®）、 NMDA 受容体阻害剤であるメマンチン（メマリー®）の 4 剤が挙げられるが、これらの薬物療法は対症療法である。また、根本的に認知症を治療する新規治療薬として、Aβやタウの凝集を抑制する抗 Aβ、抗タウ抗体や βセクレターゼ阻害薬などが開発されているが［1]、患者を対象とした臨床試験では有効性が確認されず、その多くが開発中止となっている。一方、抗生剤 Rifampicin（RFP）は、ドラッグリポジショニングにより認知症に対する有効性が最近見出され、アルツハイマー型認知症に対する新しい治療薬・予防薬開発戦略として期待される［2]。しかしながら、RFP の分子量は約 800 と大きく、中枢神経疾患に対する医薬品開発を行う際の課題の一つはこの RFP の脳への移行である。全身循環を利用した脳への薬物送達の場合、血液中の薬物の脳への移行は、血液脳関門（Blood-Brain-Barrier : BBB）により著しく制限されるため、BBB に発現するインスリンやトランスフェリンの輸送担体を利用するドラッグデリバリーシステム（DDS）が提唱されている。一方、近年、薬物を脳内へ送達する方法として、鼻腔内投与が注目されており、鼻腔と脳組織、脳脊髄液（cerebrospinal fluid : CSF）との直接的な繋がりを示唆する実験事実が多く報告されている。鼻腔内投与後の薬物の脳内移行量は、静脈内投与よりも脳への薬物移行量は多いものの、その移行量は投与量のわずかであり、より効率の良い脳内移行を得るためには、新しい鼻腔内投与型 DDS の開発が必要であることが明らかとなった［3]。そこで、鼻腔投与による脳内への薬物送達の効率化を目指して、脳内での薬物移行に影響を与える因子として glymphatic system（GPsys）に注目した。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［4]（図 1)。

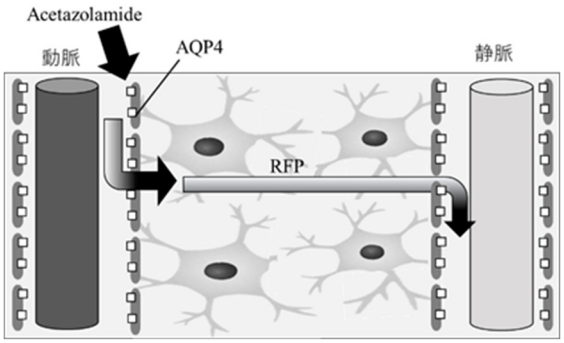


図 1. AZA 併用による RFP の脳移行性への影響
AZA は脳の細胞外液の流れである GPsys に影響を与える可能性があり、本研究では、RFP に AZA を併用することによる RFP の脳移行性について評価し、認知症治療への応用を期待する。

本研究では、まず基礎的検討として 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、さらに GPsys に影響を与えると考えられる acetazolamide（AZA）併用時の RFP の脳移行性について評価することにより、脳脊髄液の循環を制御することによる新たな脳内薬物送達法を明らかにすることを目的とした。

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

モデル薬物として膜透過性の高い antypirine（ANP）および膜透過性の低い ranitidine（RNT）を選択し、脳移行性の検討を行った。マウスに各薬液を腹腔内投与および鼻腔内投与を行い、経時的に採血および脱血還流後、脳を採取した。採取した脳は嗅球、脳前半部、脳後半部の 3 つの部位に分け、LC／MS により定量を行った。また、microdialysis（MD）法を用いて、ラットの大脳前頭葉部及び脳後方部にプローブを埋設し、脳前方部のプローブよりモデル薬物を投与した。その後、脳後方部のプローブの流出液中の薬物濃度を測定することにより、脳前方部から脳後方部への薬物移行性を評価した。

2. Acetazolamide 鼻腔内投与後の脳内における AQP4 発現への影響

マウスに AZA を鼻腔内投与し、5 分後に脳を採取した。RT-PCR 法により脳中の AQP4 の発現を評価し、非投与群と比較した。

3. Acetazolamide 鼻腔内投与後の脳脊髄液（CSF）量の変化

ラットに AZA を鼻腔内投与した後の CSF を大槽穿刺法により採取し、CSF 量を非投与群と比較した。

4. Acetazolamide 含有 RFP 溶液鼻腔内投与後の脳への移行性評価

マウスに、^{3}H 標識 RFP 溶液あるいは^{3}H 標識 RFP＋AZA 溶液を投与し、経時的に採血および脳を採取した。血漿中および脳内濃度は液体シンチレーションカウンターにより測定した。

結果および考察

1. 鼻腔内投与後の脳移行性に対する薬物の物性の影響

ANP 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。一方、RNT 鼻腔内投与後の血漿中濃度は、鼻腔内投与よりも腹腔内投与の方が高い値を示したが、脳内濃度は、嗅球、脳前半部、脳後半部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。ANP の直接移行率（Direct Transport Percentage：DTP）は、嗅球で約 40%、脳前半部、脳後半部では 0%という結果に対し、RNT ではすべての部位で 99%を超えたことから、ANP は全身循環血を介した移行の寄与が大きいこと、RNT は鼻腔から脳への直接移行の寄与が大きいことが明らかとなった。MD 法を用いた脳移行性の評価では、脳後方プローブ濃度は、ANP では、180 分までほぼ一定であったことに対して、RNT は投与開始から 100 分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。したがって、RNT のような膜透過性の低い薬物は大脳前頭葉に投与された薬物の脳内移動は比較的速いことが明らかとなった。

2. AZA 鼻腔内投与後の AQP4 発現量および CSF 量への影響

AZA 鼻腔内投与後の AQP4 発現量は非投与群と比較して、1.5 倍となった。AZA は AQP4 発現を阻害するとの報告もあり、AQP4 の発現変動に関しては実験条件等を変更してより詳細に検討する必要がある。CSF 量に関

しては、AZA 鼻腔内投与により約 20%減少することが明らかとなった。この CSF 量の減少に関しては AQP4 の発現量の変化が関与している可能性があると考えられる。

3. AZA 鼻腔内投与後の RFP の脳移行性評価

AZA＋RFP 溶液投与群は RFP 溶液投与群と比較して、血漿中濃度が低くなった一方で、脳内濃度は高くなった（図 2)。脳内濃度の AUC（脳内濃度-時間曲線下面積：Area Under the Curve）を比較すると、AZA＋RFP 投与群は RFP 溶液投与群の 1.35 倍高くなった。また、脳内濃度に対する血漿中濃度の比は RFP＋AZA 投与群は 0.22、RFP 投与群では 0.15 と、AZA を投与することにより、効率的に RFP が脳へ移行していることが明らかとなった。これは鼻腔から脳へ直接移行した際に AZA 投与により CSF 量が減少したため、CSF 中で薬物濃度が高まった可能性が考えられる。以上のことから、脳脊髄液循環を制御することにより、薬物の脳移行性を高める可能性が示唆された。

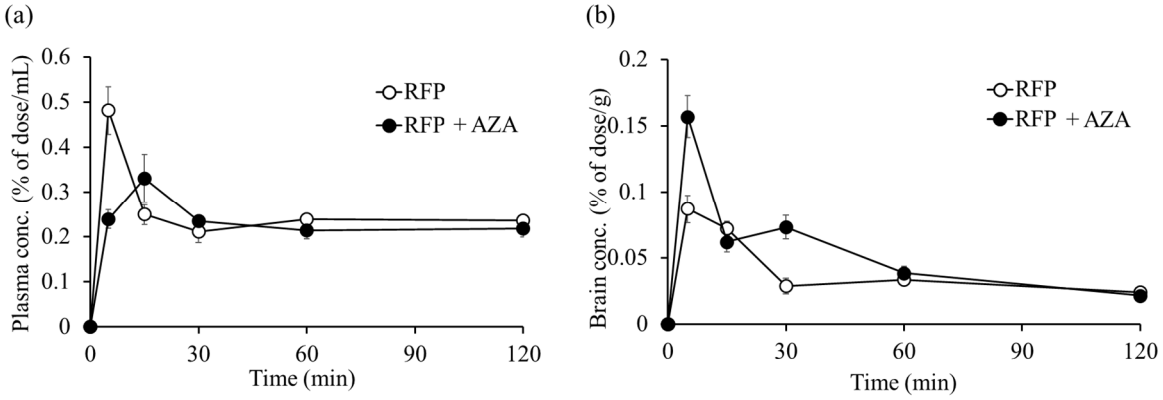


図 2. RFP 溶液または RFP＋AZA 溶液鼻腔内投与後の血漿中 RFP 濃度（a）と脳内 RFP 濃度（b）
AZA併用群は、RFP単独投与群と比較して、血漿中濃度は低くなったが、脳移行性は高くなった。
したがって、AZAを併用することにより、RFPは効率的に脳へ移行することが明らかとなった。

謝　辞

本研究遂行にあたりご支援賜りました上原生命科学財団に深く感謝致します。

文　献

1） Lane C.A., Hardy J., Schott J. M. Alzheimer's disease, Eur. J. Neurol., 2018, 25(1):59-70. PMID: 28872215 DOI: 10.1111/ene.13439

2） Umeda T., Ono K., Sakai A., Yamashita M., Mizuguchi M., Klein W. L., Yamada M., Mori H., Tomiyama T. Rifampicin is a candidate preventive medicine against amyloid-ßand tau oligomers. Brain., 2016, 139:2568-86. PMID: 27020329 DOI: 10.1093/brain/aww042

3） Umeda T., Tanaka A., Yamamoto A., Sakane T., Tomiyama T. Intranasal rifampicin for alzheimer's disease prevention, Alzheimers Dement (NY)., 2018, 4: 304-313. PMID: 30094330 DOI: 10.1016/j.trci.2018.06.012

4） Iliff J. J., Wang M., Liao Y., Plogg B. A,, Peng W., Gundersen G. A., Benveniste H., Vates G. E., Deane R., Goldman S. A., Nagelhus E. A., Nedergaad M. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid ß. Sci. Transl. Med., 2012, 4(147):147ra111. PMID: 22896675 DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.