

経鼻投与用ペプチド製剤を用いた新規うつ病治療薬

岡淳一郎¹⁾, 濱田幸恵¹⁾, 堀口道子²⁾, 山下親正²⁾

1) 東京理科大学薬学部 薬理学研究室

2) 東京理科大学薬学部 DDS・製剤設計学

【研究の背景】

既存の抗うつ薬は、モノアミンの再取り込み阻害や放出促進により作用を示すと考えられている。持続するストレスによる視床下部・下垂体・副腎皮質 (HPA) 系過剰活性化によるうつ病は、既存抗うつ薬に抵抗性を示す。我々は、生理活性ペプチド glucagon-like peptide-2 (GLP-2) が治療抵抗性うつ病モデル動物で抗うつ様作用を示すことを報告し (Iwai et al., 2009, 2013)、その作用機序として HPA 系を制御すること、海馬歯状回神経新生を改善すること等を報告した (Sasaki-Hamada, 2015)。これまでの動物実験では側脳室内投与を行ったが、既存薬と異なる作用機序をもつ新規抗うつ薬として利用するためには、末梢投与で有効性を示さなければならない。このためには、中枢移行性と末梢組織での酵素分解の課題を解決する必要がある。これまでに我々は、GLP-2 溶液に界面活性剤等を溶解して経鼻投与することにより、側脳室内投与とほぼ同等の用量で抗うつ様作用を示すことを報告した (Nakao et al., 2016)。しかし、この方法では界面活性剤による細胞毒性が問題となること、鼻粘膜を介して他の有害成分が中枢移行する可能性があることなど、臨床で用いるには問題点が多いことから、溶液ではなく GLP-2 自体を経鼻投与により良好な中枢移行を達成するような誘導体にする方法を考案することにした。

【目 的】

本研究では、臨床でも適用可能な投与方法として経鼻投与に着目し、経鼻投与用誘導体化法を考案して GLP-2 誘導体の脳内分布と抗うつ様作用について検討した。

【方 法】

ddY 系雄性マウス (5-7 週齢) を用い、強制水泳試験 (FST)、及び尾懸垂試験 (TST) により抗うつ様作用を評価した。また、オープンフィールド試験 (OFT) で自発行動量を評価した。GLP-2 誘導体は、 $3.6 \mu\text{g/day}$ を試験前日と当日 30 分前に 2 日間経鼻投与 (方鼻 $2 \mu\text{L}$) した。治療抵抗性うつ病モデルマウスは、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH; 0.45 mg/kg/day , s.c.) を 14 日間投与して作製し、GLP-2 誘導体は 6 日間経鼻投与した。蛍光色素を付加した GLP-2 誘導体を経鼻投与して FST を行った後、凍結切片を作製して脳内各部位の蛍光強度を観察した。

【結 果】

GLP-2 の N 末に、スペーサーペプチドを介して細胞膜透過促進配列 (CPP) とエンドソーム脱出促進配列 (PAS) を付加した GLP-2 誘導体は、我々の以前の報告で用いた側脳室内投与での用量と類似した用量で、経鼻投与により FST 及び TST で無動時間を短縮し、抗うつ様作用を示した。OFT では変化がみられなかった。蛍光色素を付加した GLP-2 誘導体でも抗うつ様作用がみられたが、CPP のみで PAS 付加のない GLP-2 または GLP-2 のみの経鼻投与では作用がみられなかった。ACTH を慢性投与して作製した治療抵抗性うつ病モデルマウスでも、GLP-2 誘導体の経鼻投与により抗うつ様作用が示された。FST 後に作製した凍結切片における相対蛍光強度は、海馬、視床下部背内側核、吻側延髄外側部で溶媒群に対して有意に観察された。これらは、我々の以前の研究から GLP-2 の作用と関連すると考えられる部位である。

【考 察】

生理活性ペプチドは、生体内で比較的速やかに分解されて蓄積による有害作用を生じ難いが、このことが血液脳関門の存在とともに末梢投与で中枢作用を発現させ難い原因となっている。我々が既存抗うつ薬と異なる作用機序で抗うつ様作用を示すことを見出した GLP-2 も同様である。動物実験では側脳室内投与が汎用されるが、臨床では用いることができない。本研究では侵襲性の低い経鼻投与に着目した。本研究結果より、適切な CPP と PAS を付加することにより、GLP-2 誘導体は中枢移行して抗うつ様作用を示した。PAS が無い場合は作用も脳内蛍光もみられなかったため、本研究で用いた誘導体化法の有用性が高いことが明らかになった。側脳室内投与と同等の用量で作用がみられたため、鼻粘膜からの中枢移行性は非常に高いことが示唆される (Sasaki-Hamada et al., 2017)。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究の成果から、既存抗うつ薬とは異なる作用機序をもつ GLP-2 を侵襲性の低い経鼻投与により臨床でも用いることが可能となる誘導体化法が見出され、今後のうつ病治療に大きく貢献する可能性が開かれた。また、イミプラミンが無効な治療抵抗性うつ病モデルマウスでも抗うつ様作用を示したことで、GLP-2 誘導体の有用性がさらに高まった。今後は、経鼻投与後の中枢移行経路が、齧歯類だけでなくヒトでも有効な経路(呼吸上皮から三叉神経経由)を含むことの確認、ヒトでうつ病バイオマーカーと考えられている指標がマウスでも共通して変動するか、等の検討を行う予定である。

また、ここで用いた誘導体化法は他のペプチドにも使用が可能であり、我々は GLP-1 及び neuromedin U の誘導体で経鼻投与により中枢作用を示すことを確認している。現在、特許出願中(山下ら、2016)であるが、ペプチドに限らず血液脳関門を通過し難い医薬候補化合物に応用できれば、臨床への貢献度はさらに大きくなると考えられる。

【参考・引用文献】

1. Takashi Iwai, Yohei Hayashi, Saori Narita, Yuko Kasuya, Kazushi Jin, Mamiko Tsugane and Jun-Ichiro Oka (2009). Antidepressant-like effects of glucagon-like peptide-2 in mice occur via monoamine pathways. *Behavioural Brain Research* 204, 235-240.
2. Takashi Iwai, Tomoko Ohnuki, Sachie Sasaki-Hamada, Akiyoshi Saitoh, Azusa Sugiyama, Jun-Ichiro Oka (2013). Glucagon-like peptide-2 but not imipramine exhibits antidepressant-like effects in ACTH-treated mice. *Behavioural Brain Research* 243, 153-157.
3. Sachie Sasaki-Hamada, Yoichi Yuri, Maho Hoshi, Jun-Ichiro Oka (2015). Immunohistochemical determination of the site of antidepressant-like effects of glucagon-like peptide-2 in ACTH-treated mice. *Neuroscience* 294, 156-165.
4. Yusuke Nakao, Michiko Horiguchi, Ryuji Nakamura, Sachie Sasaki-Hamada, Chihiro Ozawa, Taichi Funane, Ryo Ozawa, Jun-Ichiro Oka, Chikamasa Yamashita (2016). LARETH-25 and β -CD improve central transitivity and central pharmacological effect of the GLP-2 peptide. *International Journal of Pharmaceutics* 515, 37-45.
5. Sachie Sasaki-Hamada, Ryuji Nakamura, Yusuke Nakao, Toshiki Akimoto, Emi Sanai, Mio Nagai, Michiko Horiguchi, Chikamasa Yamashita, Jun-Ichiro Oka (2017). Antidepressant-like effects exerted by the intranasal administration of a glucagon-like peptide-2 derivative containing cell-penetrating peptides and a penetration-accelerating sequence in mice. *Peptides* 87, 64-70.
6. 山下親正、岡淳一郎、堀口道子、濱田幸恵 (2016). 中枢作用性ペプチド誘導体及び医薬組成物 Patent Cooperation Treaty: 国際公開番号: WO 2016/035820 A1 (March 10, 2016)