

進行したアルツハイマー病患者の認知機能低下を改善する脳内ペプチド送達法の開発

亀井敬泰

神戸学院大学薬学部 薬物送達システム学研究室

【研究の背景】

近年、インスリンやグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 受容体作動薬が記憶・学習能力の改善効果を有する可能性が示唆されており、アルツハイマー型認知症治療におけるこれらペプチド薬物応用が期待されている^{1,2)}。しかし、血液中から脳への薬物移行性は血液脳関門 (Blood-Brain Barrier: BBB) により著しく制限されている。それに対し、鼻腔から脳への直接的な薬物移行経路が、全身循環を経ない安全な脳内薬物送達に有効となり得ることが注目されている。ただし、これらのペプチド薬物は鼻粘膜上皮細胞 (嗅神経細胞や支持細胞) への取込み効率が低く、単独で経鼻投与するだけでは脳まで到達できない³⁾。従って、ペプチド薬物の Nose-to-Brain 送達法を基盤とした認知症治療戦略を構築するためには、膜透過促進技術を組合せることが必須である。

【目 的】

我々はこれまでに、生体膜透過促進ツールである「細胞膜透過ペプチド (Cell-penetrating peptides: CPPs)」を併用することにより経鼻投与後のインスリンの脳内移行性が顕著に増大することを明らかにした^{3,4)}。そこで本研究では、経鼻投与を介したペプチド薬物脳送達戦略の認知症に対する有効性を実証するため、インスリンを penetratin と併用し長期間連続で老化促進マウスに経鼻投与した後、記憶低下の進行抑制効果、および、悪化した記憶障害に対する改善効果を解析した。また、病態下の脳器質的变化に対する影響を評価した。さらに、GLP-1 受容体作動薬である Exendin-4 の脳送達への本戦略の応用性についても検証した。

【方 法】

・空間記憶学習評価: 老化促進モデルマウス (SAMP8) および正常対照マウス (SAMR1) にインスリンおよび penetratin 混合溶液を 1 日 1 回 5 もしくは 8 週間連続経鼻投与した翌日より、前訓練 (1 日) および訓練 (7 日間もしくは 4 日間) から構成されるモリス水迷路試験を実施した。

・脳組織の免疫染色: SAMP8 および SAMR1 マウスから摘出した脳の冠状断切片を作製し、抗 NeuN もしくは A β 抗体を用いて染色した後、NeuN 陽性細胞数および A β 陽性面積を算出した。

・Exendin-4 経鼻投与実験: ddY 系雄性マウスに麻酔した後、仰向けにして左鼻腔内に Exendin-4 および penetratin の混合溶液を投与した (5 μ L/マウス)。一定時間経過した後、頸静脈より血液を採取するとともに、氷冷緩衝液の還流により脱血した脳を迅速に摘出した。

【結 果】

まず軽度に認知機能が障害された老化促進マウス (SAMP8) にインスリンを長期連続経鼻投与した結果、penetratin 併用時にのみ認知機能低下に対する抑制効果が認められた。それに対し、認知機能障害が進行した SAMP8 マウスに penetratin 併用インスリン長期連続経鼻投与を実施した結果、記憶の改善は認められなかった。さらに、病態の進行した

SAMP8 マウスの海馬における神経細胞数を解析した結果、インスリン単独経鼻投与後において神経細胞数減少が抑制されたのに対し、penetratin 併用時にはその効果が減弱していた。加えて A β 沈着面積を解析した結果、予想に反してインスリン脳内濃度の増大に伴い A β 沈着が増大することが明らかになった。

一方、認知機能障害が進行した場合においても治療効果を発揮しうる可能性が期待される Exendin-4 に penetratin を併用し経鼻投与した結果、嗅球、海馬、大脳皮質をはじめとする脳各部位における Exendin-4 濃度が顕著に増大することが明らかになった。

【考 察】

上記の結果よりインスリンの脳送達効率を高めることにより軽度認知機能障害の進行抑制効果は認められたものの、重度の脳機能低下を回復させるには至らなかった。これには認知症の進行度と脳内インスリンの作用バランスが関係していると推察されることから、病態の進行度を把握しインスリンの脳送達効率をコントロールすることの重要性が示唆された。一方、penetratin 併用経鼻投与法は Exendin-4 の効率的な脳送達にも応用可能であったことから、今後は Nose-to-Brain デリバリー戦略を介して脳に到達した Exendin-4 があらゆる進行度の認知症治療に有効となることを証明したい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で考案した直接的脳内ペプチド送達法は、精神神経疾患領域の創薬研究が直面する難題を突破するブレークスルーとなる可能性を有している。超高齢化を迎え認知症患者が益々増加することが予想される今、本手法の完成により得られる社会貢献度は計り知れないと考えている。

【参考・引用文献】

- 1) Craft S, Baker LD, Montine TJ, et al, *Arch. Neurol.*, 69, 29-38 (2012).
- 2) Bomfim TR, Forny-Germano L, Sathler LB, et al, *J. Clin. Invest.*, 122, 1339-1353 (2012).
- 3) Kamei N, Takeda-Morishita M, *J. Control. Release*, 197, 105-110 (2015).
- 4) Kamei N, et al, *Mol. Pharm.* 13, 1004-1011 (2016)