

論文審査の結果の要旨

氏名：藏 野 匠

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：N-アセチル-L-システインの経鼻投与に細胞透過性ペプチド修飾ナノキャリアを併用した鼻から脊髄への薬物送達に関する研究

審査委員：(主査) 教授 鈴木 豊史

(副査) 教授 藤井 まき子 教授 松本 宜明

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は運動ニューロンの変性を特徴とする神経変性疾患で、家族性 ALS の一部は銅/亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ (SOD1) 遺伝子の変異を伴う。この変異型 SOD1 を過剰発現させたマウス (G93A マウス) は ALS 様症状を示すことから、ALS 研究に汎用される。水溶性化合物である N-アセチル-L-システイン (NAC) は、抗酸化作用を有するため ALS の有望な候補薬になりえる。しかし、NAC は血液脳関門 (BBB) により脳および脊髄への移行が制限されるため、NAC を皮下投与しても G93A マウスの生存期間を延長させるほどの効果は得られない。経鼻投与には、BBB を回避して鼻から脳へ薬物を直接移行可能な経路が存在する。鼻から脳への効率的な薬物送達戦略の 1 つとして、経鼻投与にナノキャリアを利用する研究が行われている。これらの研究の多くは、脳の中中枢神経系疾患に対する治療効果を検討したものであり、脊髄への薬物送達や脊髄疾患治療を標的とした研究は極めて少ない。本論文は、鼻から脊髄への薬物送達に適したナノキャリアの表面特性を探索することから、NAC にナノキャリアを併用した経鼻投与が ALS の病勢進展に対して抑制を示す有用な薬物送達法になるかを検討したものである。

これまでに、鼻から脊髄への送達に適したナノキャリアの表面特性は明らかではなかった。最初に、ナノキャリアの中でも表面特性を自由に改変可能なリポソームに着目し、表面電荷やポリエチレングリコール (PEG) 修飾が鼻から脊髄へのナノキャリアの分布に及ぼす影響を評価した。薄膜水合法により、蛍光標識した PEG 修飾正電荷、中性電荷および負電荷リポソーム (PEG-Positive、PEG-Neutral および PEG-Negative) または PEG 未修飾中性電荷リポソーム (Non-PEG-Neutral) をそれぞれ調製した。食道逆挿管鼻腔内投与方法により、リポソームを 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ で 5 分間投与した。投与 120 分後の脳および脊髄について、*ex vivo* イメージングにより観察した。PEG-Positive および PEG-Negative は、脳および脊髄全体にほぼ均一した弱い蛍光が観察された。これに対して、PEG-Neutral は、正および負に帯電したリポソームと比較して脳および脊髄で強い蛍光が広く分布していた。一方、Non-PEG-Neutral では、脳前方にのみ強い蛍光の局在が観察された。これらのことから、ナノキャリアの電荷を中性電荷にすることに加え、その表面に PEG を修飾することが、脊髄に薬物を効率的に送達するために必要な特性であることを明らかにした。

薄膜水合法でリポソームを調製した場合、水溶性化合物の封入率は低いことが懸念される。高分子ナノミセルである細胞透過性ペプチド修飾ナノキャリア (PEG-PCL-Tat: PPT) は、その表面に水溶性化合物を搭載したまま、鼻から脳へ効率的な送達が可能である。そこで、NAC 溶液と PPT 溶液を等量混合することで NAC/PPT を調製し、PPT の表面に、NAC を搭載することが可能であるかをその物性から評価した。また、NAC を搭載した PPT の経鼻投与が、ALS の病勢進展に対して抑制を示す有用な薬物送達法になるかを明らかにするため、G93A マウスの生存期間について検討した。NAC/PPT の物性を評価したところ、NAC は PPT に搭載され、その電荷が中性電荷になることを明らかにした。したがって、NAC/PPT は表面特性として中性電荷と PEG 修飾の両者を有することから、鼻から脊髄への NAC の送達を促進する可能性が示唆された。実際に、NAC/PPT を G93A マウスに対して繰り返し経鼻投与することで、NAC/PPT 群の生存期間中央値は 137.5 日となり、未処置群 (126.0 日) と比較して生存期間を 11.5 日間、有意に延長した ($p=0.0069$)。したがって、NAC/PPT の繰り返し経鼻投与が、G93A マウスの生存期間を延長させることを明らかにした。

以上、中性電荷および PEG 修飾が、脊髄へ薬物を効率的に送達するために必要なナノキャリアの表面特性であることに加え、NAC を搭載した高分子ナノミセルは中性電荷および PEG 修飾を有し、その繰り返し経鼻投与は、G93A マウスの生存期間を延長させる有用な薬物送達法であることを明らかにした。これらの知見は、脊髄疾患治療を標的とする有用な薬物送達戦略の開発に大きく貢献するものと考えられる。

よって本論文は、博士（薬学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 5 年 1 月 16 日