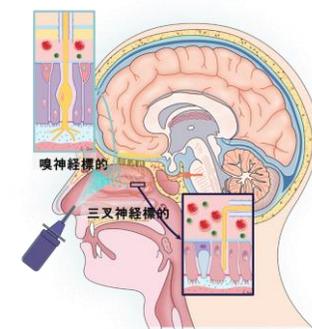


脊髄に薬物・中分子薬を届ける 経鼻送達ナノカプセル技術



静岡県立大学 薬学部 創剤科学分野
准教授 金沢 貴憲



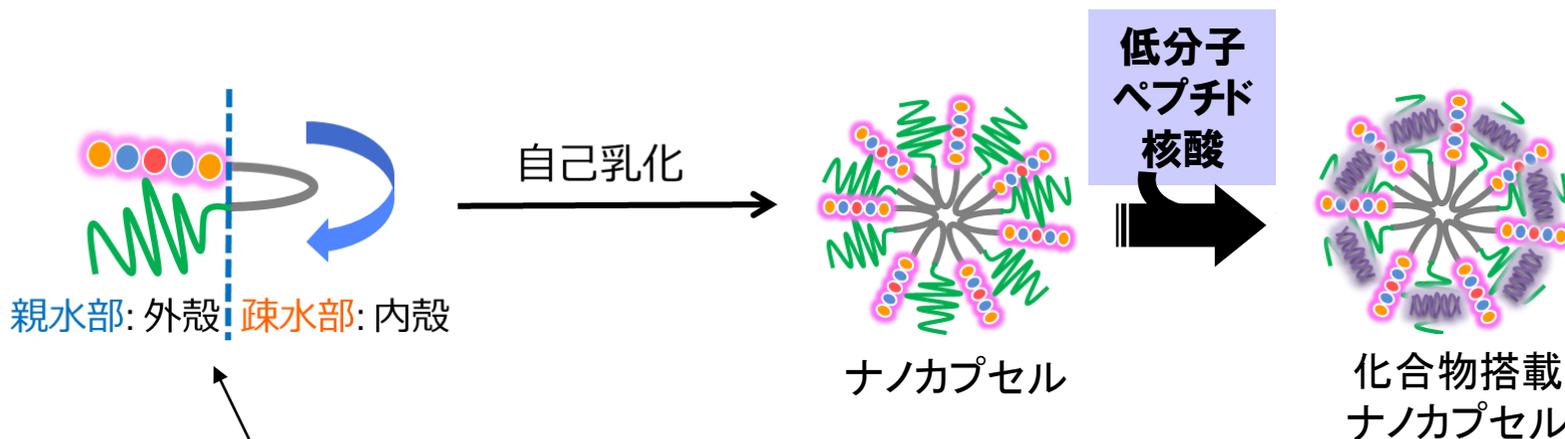
令和2年10月27日



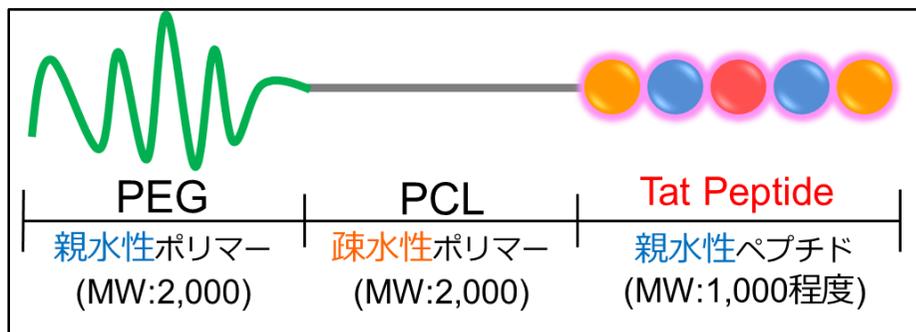
発明の概要

➤ 低分子化合物・ペプチド・核酸を脊髄へ非侵襲的に効率よく届ける経鼻投与型ナノカプセル

経鼻投与型ナノカプセルの構造



PEG-PCL-Tat : ポリエチレングリコール₂₀₀₀-ポリカプロラクトン₂₀₀₀ 共重合体-Tat(膜透過ペプチド)、約80 nm、10 mV



PEG : ポリエチレングリコール₂₀₀₀

PCL : ポリカプロラクトン₂₀₀₀

Tatペプチド : 膜透過ペプチド

- 低～中分子(ペプチド、核酸)化合物を送達可能
- ナノカプセル自体の細胞毒性は低い

- 化合物の安定性も確保可能
- 高い治療効果

従来技術の課題と新技術の優位性

従来技術

経口投与や静脈内投与

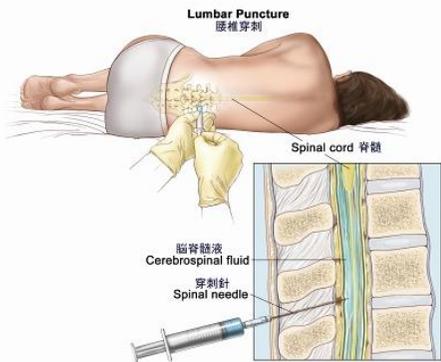
難しい投与技術は不要
(侵襲性低い)

- 血液-脳関門や血液-脳脊髄液関門により著しく制限される(化合物の特性が限られる)
⇒ 脊髄組織の薬物濃度を治療域まで高めることが難しい
- 治療域まで高めるためには大量の薬物が必要
⇒ 末梢組織に対する副作用発現が危惧される

髄腔内投与

速やかに薬剤を髄腔内送達可能

- 投与に技術が必要
- 侵襲性が高く
患者への負担が大きい
- 投与計画が難しい

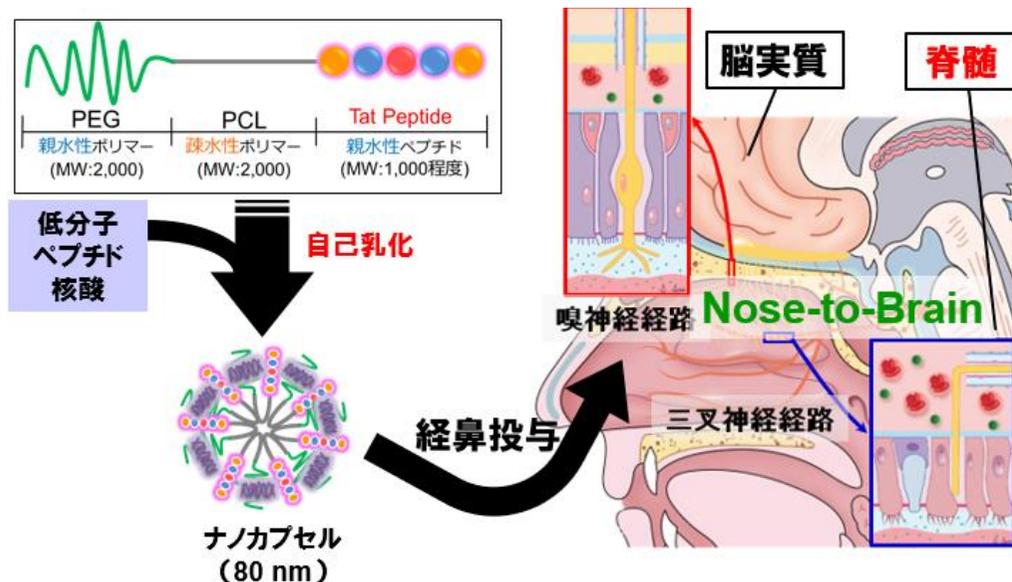


http://cancerinfo.tri-kobe.org/pdq/summary/japanese.jsp?Pdq_ID=CDR0000258030より

新技術

本方法

- 鼻からナノカプセルを吸入するだけの簡便な投与
- 非侵襲的に脊髄に到達させる事が可能
- 低分子～中分子の化合物に幅広く適用できる



实施例



経鼻投与から60分経過後の各中枢組織における [¹⁴C]-デキストランの分布効率(ID%/g tissue)

[¹⁴C]-Dextran (Mw:10,000) : 13.52 μg/25 μL (2 μCi/mL)

嗅球	ID%/g tissue	Standard Error	相対比
薬液単独	2.104	0.501	1
PEG-PCL	1.887	0.565	0.90
PEG-PCL-Tat	3.150	0.735	1.49
前脳部	ID%/g tissue	Standard Error	相対比
薬液単独	0.159	0.042	1
PEG-PCL	0.113	0.067	0.71
PEG-PCL-Tat	0.187	0.046	1.17
後脳部	ID%/g tissue	Standard Error	相対比
薬液単独	0.130	0.022	1
PEG-PCL	0.158	0.082	1.21
PEG-PCL-Tat	0.317	0.052	2.43
全脳	ID%/g tissue	Standard Error	相対比
薬液単独	0.177	0.033	1
PEG-PCL	0.145	0.072	0.82
PEG-PCL-Tat	0.218	0.040	1.23
脊髄	ID%/g tissue	Standard Error	相対比
薬液単独	0.042	0.018	1
PEG-PCL	0.067	0.048	1.60
PEG-PCL-Tat	0.185	0.016	4.40

PEG-PCL: ポリエチレングリコール₂₀₀₀-ポリカプロラクトン₂₀₀₀ 共重合体、約80 nm、中性電荷)

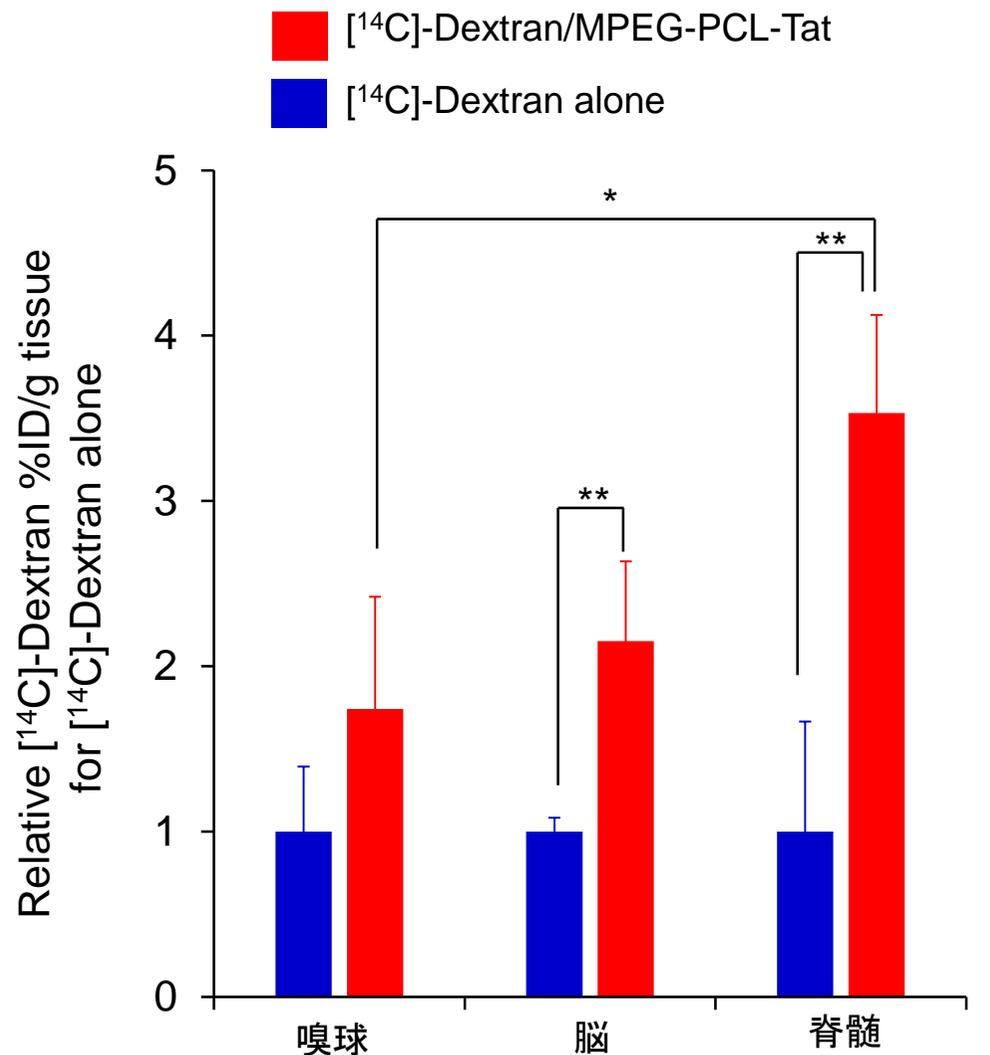
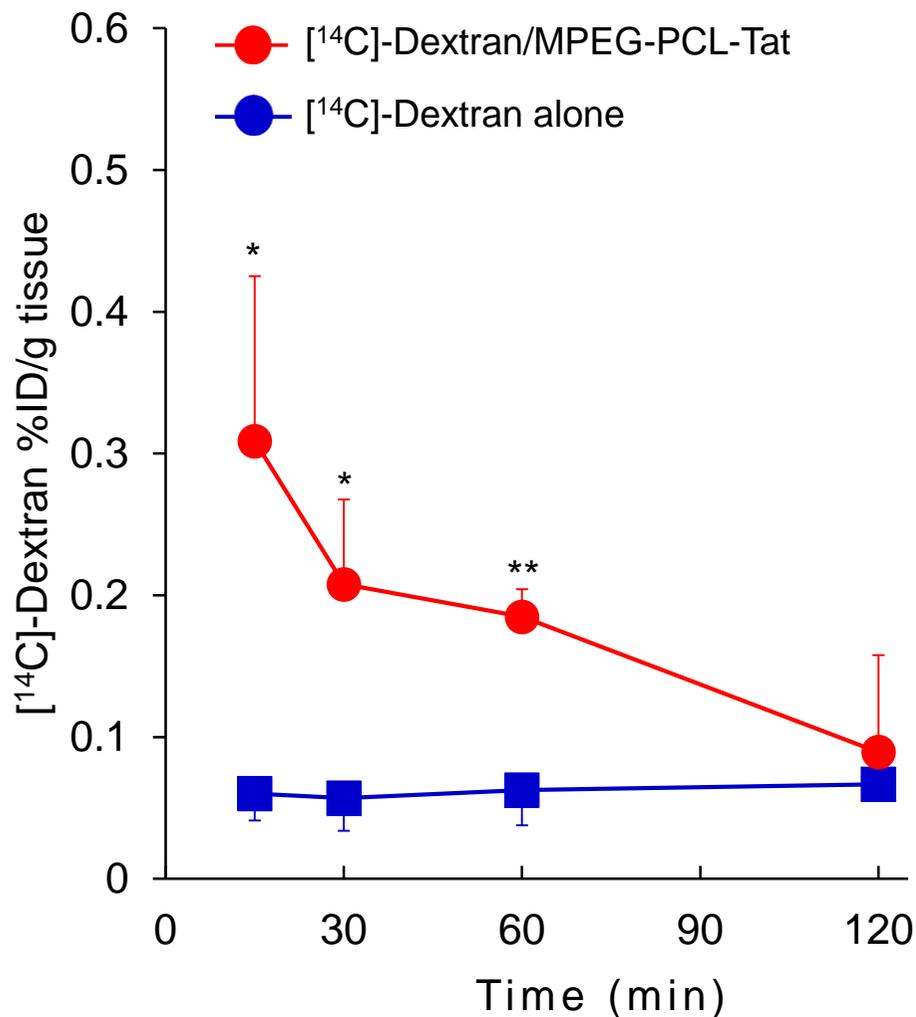
PEG-PCL-Tat : ポリエチレングリコール₂₀₀₀-ポリカプロラクトン₂₀₀₀ 共重合体-Tat(膜透過ペプチド)、約80 nm、10 mV)

- いずれの中中枢組織においても、PEG-PCL-Tatの分布効率が最も高かった。
- 特に脊髄では、PEG-PCL-Tatの分布効率が飛躍的に向上した。



PEG-PCL-Tat併用による $[^{14}\text{C}]$ -Dextran 経鼻投与後の脊髄内分布

$[^{14}\text{C}]$ -Dextran (Mw:10,000) : 13.52 $\mu\text{g}/25 \mu\text{L}$ (2 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$)
ピペットにより30秒ごとに2 μL ずつ投与



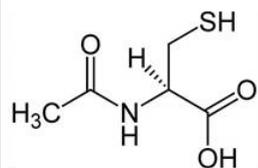
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (ANOVA), mean \pm S.E. (n=4)

➤ PEG-PCL-Tat 併用により、脊髄への優れた送達性を示した。



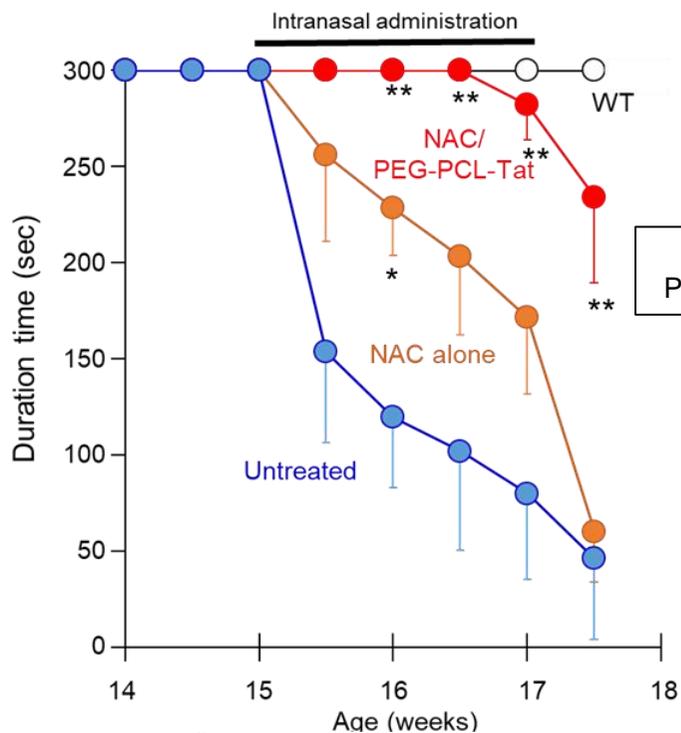
N-Acetyl Cysteine/MPEG-PCL-Tatの経鼻投与の 筋萎縮性側索硬化症 (ALS, SOD変異体^{G93A}) マウスに対する治療効果

N-Acetyl Cysteine (NAC) : 去痰薬、アセトアミノフェンの解毒薬



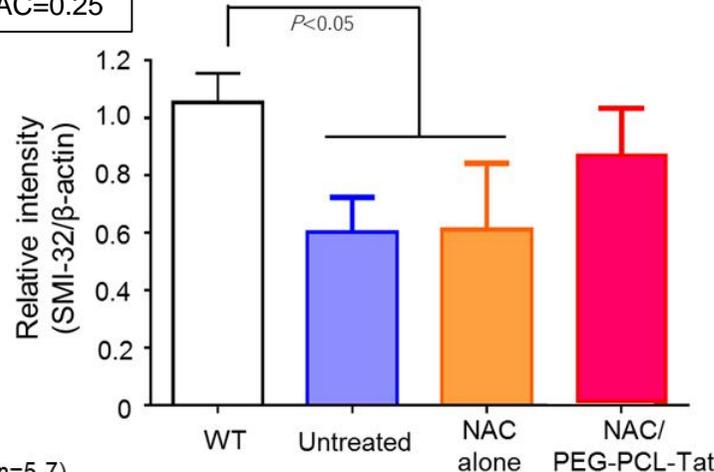
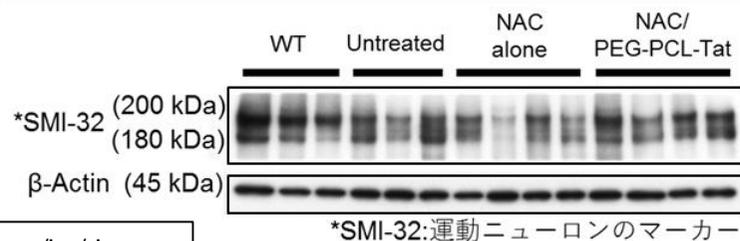
- ・脳内グルタチオン濃度亢進作用 (抗酸化作用)
- ・アルツハイマー病、パーキンソン病、脳虚血障害、ALSに有効
Brain Behav 4,108-122 (2014), *Nature* 362,59-62 (1993)
- ・静脈内・腹腔内投与では脳脊髄へ移行しない
Free Radic Res 247,357-367 (2013)

SOD1変異(G93A)マウス
ALSモデルとして、発症機構の解明や
治療薬の開発に使用されている。



NAC: 50 mg/kg/day
PEG-PCL-Tat/NAC=0.25

*P<0.05, **P<0.01 vs other groups (ANOVA), mean±S.E. (n=5-7)



ロータロッドを用いた運動機能の評価

SMI-32 (運動ニューロンマーカー) の発現量

腹腔内投与 (同投与量)、経口投与 (10倍量 500 mg/kg/day) では、治療効果は全く得られなかった。

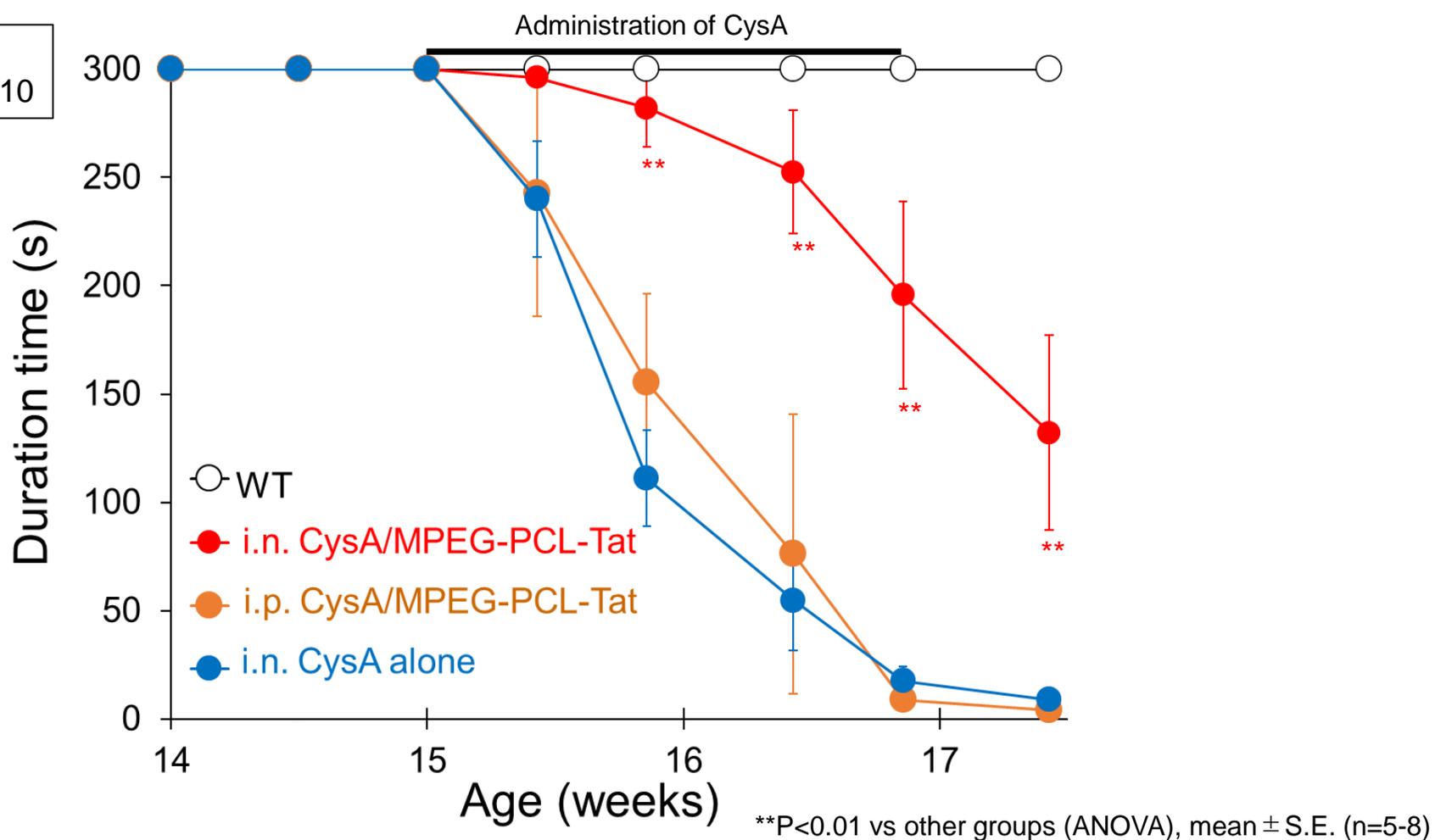
➤ NACはPEG-PCL-Tat複合体として経鼻投与することで、脊髄への分布効率が向上し、高い治療効果を発揮した。(脊髄前角:運動機能)



シクロスポリンA(CysA:環状ポリペプチド)/MPEG-PCL-Tatの 経鼻投与によるALSマウスに対する治療効果(運動機能)

ロータロッドを用いた運動機能の評価

CysA: 0.5 mg/kg/day
PEG-PCL-Tat/CysA=10



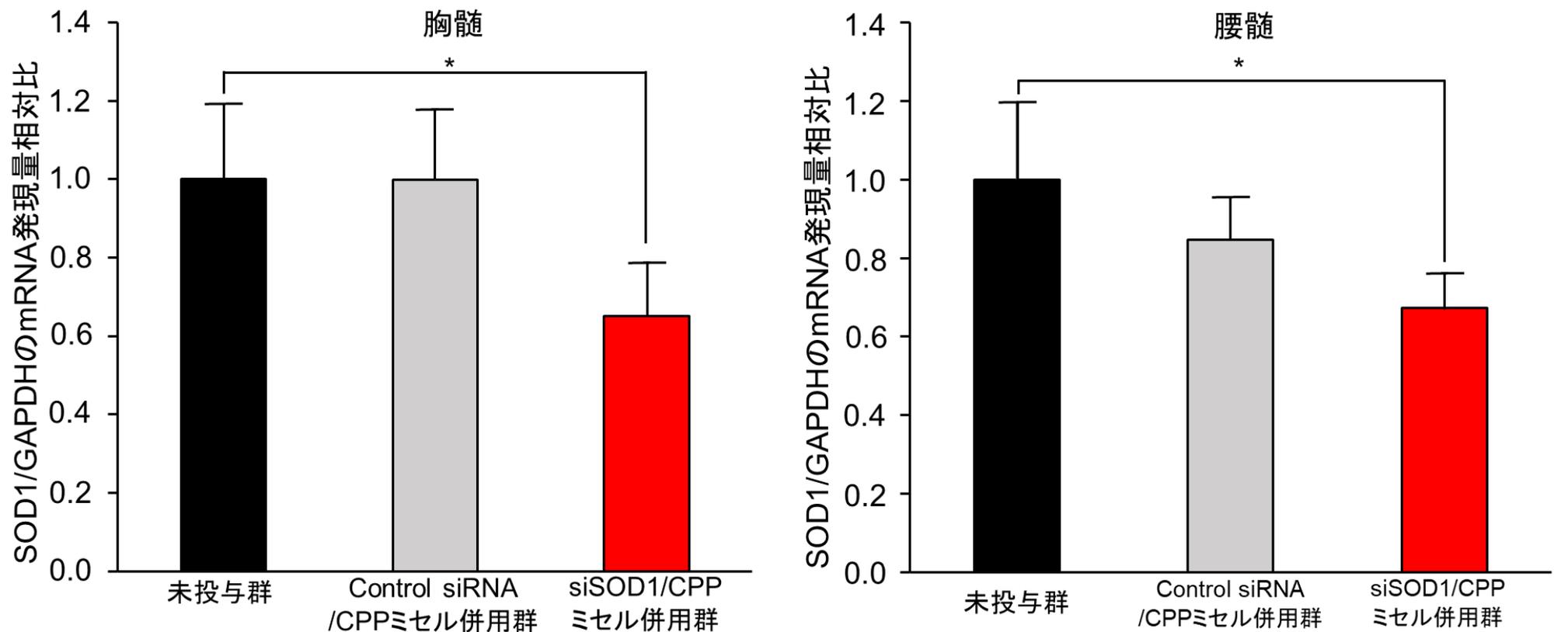
腹腔内投与(同投与量)では、治療効果は全く得られなかった。

- CysAはPEG-PCL-Tat複合体として経鼻投与することで、脊髄への分布効率が向上し、高い治療効果を発揮した。(脊髄前角:運動機能)



Human SOD1標的siRNA (siSOD1)/MPEG-PCL-Tatの 経鼻投与によるALSマウスにおけるhSOD1 mRNA発現抑制効果

1日1回 (siRNA量: 1 nmol/mice, 0.65 mg/kg) 3日間連続で薬液を投与
摘出した脊髄(胸髄、腰髄)からRNAを回収し、リアルタイムPCR法によりmRNA発現量を測定



* $P < 0.05$ (ANOVA), mean \pm S.E. (n=4)

hSOD1標的siRNA/PEG-PCL-Tat複合体の薬液を経鼻投与したものは、コントロールsiRNA/PEG-PCL-Tat複合体や未処置のものと比較して、脊髄中の標的hSOD1 mRNAのGAPDH mRNAに対する相対的発現量が65%まで抑制された。

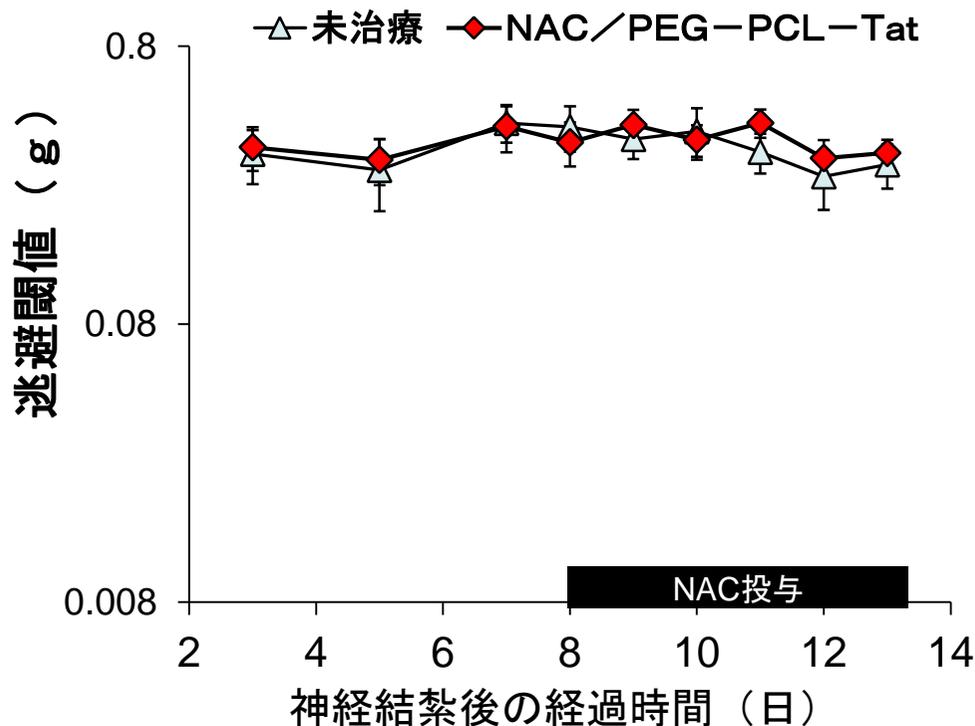
➤ siRNA/PEG-PCL-Tat複合体を経鼻投与することにより、siRNAが脊髄中に送達され、細胞内において配列特異的にRNAサイレンシング効果を発揮した。



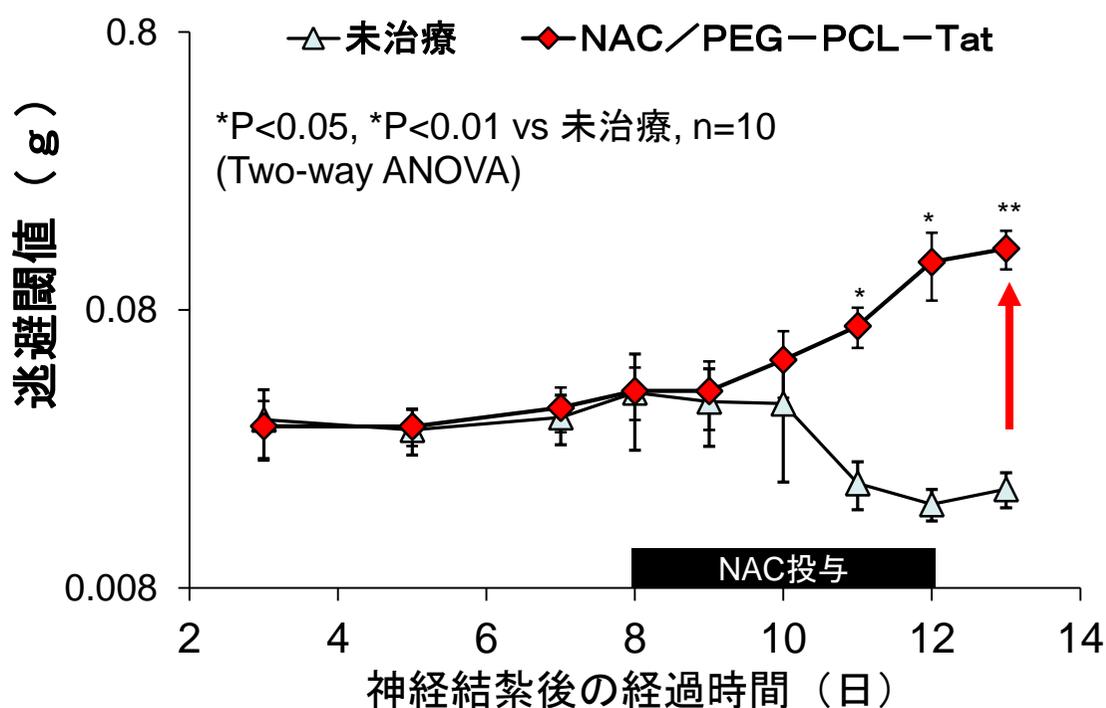
神経障害性疼痛モデルマウスに対する治療効果(Vonfrey:痛覚テスト)

Seltzerらによって報告されたラット坐骨神経半周結紮モデルをマウスに応用した
坐骨神経部分結紮モデルマウス(partial sciatic nerve ligated mice: PSNLマウス)
→ICRマウスの右肢坐骨神経を手術用縫合糸で半周結紮することで作製

非結紮側後肢(左肢)偽処置群



結紮側後肢(右肢)疼痛モデル



NAC/PEG-PCL-Tat複合体の経鼻投与は、神経結紮側後肢(右肢)における触刺激を痛いと感じる反応(アロディニア反応)が出現する最小圧力の低下を未治療と比較して有意に改善した。

➤ NAC/PEG-PCL-Tat複合体を経鼻投与することにより、NACが脊髄に送達され、脊髄において神経障害性疼痛に対する治療効果を発揮した。(脊髄後角:痛覚機能)



新技術の特徴まとめ

- **侵襲性の低い、簡易な方法で薬物を脊髄に送達可能**
- **高い治療効果**
(現在はALSモデルマウス、神経障害性疼痛モデルマウス)
- **容易な調製法、保存安定性高い(凍結保存1ヶ月～)**
- **搭載する化合物(活性成分)の安定性を高める**
- **ナノカプセル自体の細胞毒性は低い**



新技術によって期待される社会への貢献

☆ 非侵襲的で特別な投与技術を必要としない技術

高度な医療技術が発達していない国・地域(僻地や途上国)での健康維持や医療にも貢献できる。

☆ 自己投与・頻回投与が可能

病院等に行かずとも、在宅で健康維持などに貢献できるため、高齢化社会や感染症による自粛生活(withコロナ)に貢献できる。



想定される用途

- **脊髄(中枢)疾患に対する自己投与型の医薬品**
- **脊髄(中枢)疾患の予防や症状軽減のための
サプリメントやアロマといったヘルスケア製品**
- **運動機能障害、脊髄損傷などのペット・動物用医薬品**



企業への要望

- **経鼻投与デバイスの設計技術を有する企業との共同研究
(ナノカプセルに適するデバイス設計)**
- **サルなど霊長類に対する本技術のPOC取得を支援(協力)
してくれる企業との共同研究**
- **脊髄・中枢を標的とするアロマ、ヘルスケア、動物薬・医薬品の製品化において、**
 - ・ **活性成分の脊髄(中枢)送達効率の向上**
 - ・ **副作用の低減****が課題となっている企業に対して有効な技術である**



本技術に関する JST事業・産学連携の実績

2019年 JST 大学等知財基盤強化支援(権利化支援) 採択

2020年 JSTイノベーション・ジャパン大学見本市 採択

2020年 JST A-STEP(トライアウト) 採択

**現在進行中を含め、
これまで 5 社とフィージビリティ・共同・受託研究などを実施**



実用化に向けた課題 (+従来技術との比較)

項目 (課題)	新技術の 現在の水準	新技術の 目標水準	実用化に 必要な水準	従来の経鼻投与 型ナノカプセル	静脈内投与型 ナノカプセル	髄腔内投与
①サイズ(nm)	60~100 ○	30~50 ◎	30 ◎	100~200 △	30~200 △~◎	—
②多分散指数	0.3以上 △	0.1以下 ○	0.1以下 ◎	0.3以上 △	0.05~0.2 ○~◎	—
③脊髄(中枢)送達効率 (ID%/組織重量)	0.1~0.3 ○	5~ ◎	5~10 ◎	0.1以下 △	0.01~5 ×~◎	10以上 ◎
④脊髄(中枢)/末梢(肝・腎) 分布比率	0.5~2 ○	10~ ◎	10 ◎	0.2~0.5 △	~0.2以下 ×	10以上 ◎
⑤末梢に対する 副作用リスクの回避	◎	◎	◎	○	×~△	○
⑥投与の簡便性	自己投与◎ 簡便◎	自己投与◎ 簡便◎	自己投与◎ 簡便◎	自己投与◎ 簡便◎	自己投与△ 煩雑△	自己投与× 煩雑×
⑦侵襲性・安全性	非侵襲◎	非侵襲◎	非侵襲◎	非侵襲◎	低侵襲△	高侵襲×
⑧投与計画が容易	◎	◎	◎	◎	△	×

現在の取り組み: 製造法の改良(マイクロ流路法)、動態解析によるナノカプセル物性の最適化
⇒ナノカプセルの均質化・物性の精密制御⇒脊髄(中枢)送達効率の向上・末梢への分布の低減



本技術に関する知的財産権

発明の名称：薬物送達用組成物および医薬組成物

出願番号：特願2019-115688、PCT/JP2020/18512

出願人：静岡県公立大学法人、日本大学

発明者：金沢貴憲、小菅康弘、宮岸寛子、鈴木直人

お問い合わせ先

ご連絡をお待ちしております。



静岡県立大学

教育研究推進部 地域・産学連携推進室

T E L 054-264-5124

e-mail renkei@u-shizuoka-ken.ac.jp