薬 剤 学, **81** (3), 231–235 (2021)

≪若手研究者紹介≫

経鼻投与型製剤の開発を目指して

井 上 大 輔* Daisuke Inoue
立命館大学 薬学部 分子薬剤学研究室

1. は じ め に

本稿執筆のご依頼をいただき，ふと振り返ってみれば，学部時代より研究生活を開始し，早 15 年が経過していることに気付かされた．その間，多数の恩師の先生方とのご縁にも恵まれ，大学院進学，大学教員と，筆者自身が想像もしていなかった将来像へと突き進んでいることに，今更ながら驚きを感じている．本稿では，筆者のこれまでの研究人生と変遷を，これまで行ってきた研究内容を交えてご紹介させていただきたい．

2. 研究のはじまり

筆者は，就実大学薬学部の第一期生として入学した．当時，薬学部は新設で一学年のみ，他学部は女子大学であったため，キャンパス内は女子学生で溢れ，筆者を含めた男子学生は非常に肩身の狭い思いをしたのを今でも覚えている．クラス制であったため，入学時より生活全般のご指導をいただいたのが，当時の薬剤学研究室の東豊教授であった．筆者は物事を決断することが苦手であり，将来の夢もぼんやりとした中で何となく研究者になりたいと思い，薬学部を志した身である．当初より，大学院進学したいと東先生にご相談していたが，薬学部には大学院ができないことを告げられた．そこで，他大学の大学院進学を目指すことを勧められ，学部一回生ながら自身の将来を考える機会に恵まれた．新設であるため学部内は学生が少なく，もちろん研究室配属学生もいなかった．そこで，一回生後期を迎えた頃，ちょうど薬剤学研究室に着任された古林呂之助手（現神戸薬科大学准教授）にご相談し，研究室での実験補助をさせていただけることとなった．毎日のように，講義の合間や講義後には研究室で動物実験をし，サンプル処理や定量など実験の補助をする機会をいただき，大変充実した日々を過ごすことができた．少し時期は早いが，筆者にとっては入学時クラス配属が薬剤学との出会いであり，実験補助の経験が薬剤学に関する研究生活の始まりとなった．

3. 経鼻吸収研究との出会い

研究の実験補助をさせていただいていたご縁もあり，筆者はそのまま薬剤学研究室へと配属となった．研究指導については，坂根稔康助教授（現神戸薬科大学教授）の下でご指導をいただきながら，経鼻吸収性評価に関する研究を開始した．粘性製剤の鼻腔内滞留性を評価し，投与製剤の粘性と鼻腔内滞留性，経鼻吸収率との相関性を明らかにするための研究を行った．研究開始当初は動物実験の手技を身に付けて，自身の実験を進めるために無我夢中であったが，実験に慣れてくると，日々の実験が楽しく，また，実験結果を出す喜びを感じるようになってきた．大学院に進学して，更に研究活動を継続したいとの思いも相変わらず続き，大学院進学を決意した．そこ

*2009 年岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士前期課程修了，同年就実大学薬学部助手，2013 年岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士後期課程修了，博士（薬学）取得，同年就実大学薬学部助教，2019 年立命館大学薬学部助教．2021 年日本薬剤学会旭化成創剤研究奨励賞，2020 年度日本薬学会関西支部奨励賞，2018 JSSX Best poster award 他．研究テーマ：経鼻吸収，鼻腔脳薬物送達，経鼻投与製剤に関する研究．趣味：料理．連絡先：〒525–8577 滋賀県草津市野路東 1–1–1 E-mail: d-inoue@fc.ritsumei.ac.jp

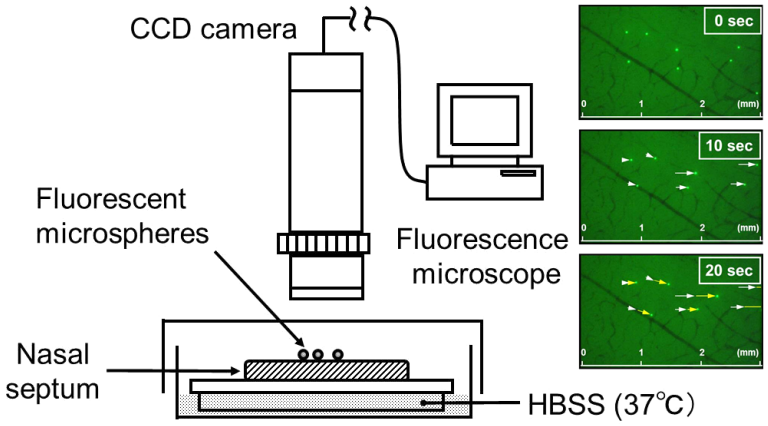

図 1　*In vitro* MC 評価システムの概略図

で，坂根先生にご相談し，ご縁をいただき，当時，木村聰城郎教授が主宰されていた岡山大学大学院の生物薬剤学研究室に進学することができた．大学院では，木村先生のご厚意もあり，経鼻吸収に関する研究を継続することができた．

4. 鼻腔内生理機能を考慮した経鼻投与後の薬物吸収速度論モデルの開発

修士論文の研究テーマとして，鼻腔内生理機能である mucociliary clearance（MC）を考慮した薬物速度論モデルの構築を目指し，研究を開始した．鼻腔には生理機能として，塵埃，細菌・ウイルス等の外来性異物を非特異的に鼻腔外へと排除する感染防御機構として MC が機能している．鼻腔内では，粘膜表面を覆っている粘液層が繊毛の前後運動により絶えず咽頭側へと排出しており，呼気等により鼻腔内に侵入した外来性異物が粘液層表面に付着すると，MC により鼻腔外咽頭側へと排出され，その後，消化管まで移行する．生体は本 MC 機能により，外来性異物による鼻腔内感染の予防に寄与している．一方で，MC は鼻腔内投与された薬物についても同様に咽頭側へと排出するため，一般的に投与薬物の鼻腔内滞留時間は短く，15 分から 30 分程度で鼻腔外へと排出されてしまう．したがって，経鼻吸収において MC は鼻腔内滞留性を決定づけ，鼻粘膜吸収性に大きく寄与する因子であることが想定された．そこで，まずは，この MC を *in vitro* 系で定量評価できる実験系の構築を試みた．

ラットから摘出した鼻中隔表面に蛍光微粒子を適用し，微粒子の移動を蛍光顕微鏡下で観察することで，鼻粘膜表面で MC により物質が移動する様子を観察する方法を開発した（図 1）[1]．本 *in vitro* MC 評価法により，鼻腔内生理機能である MC を定量評価可能となり，MC を PK パラメータとして組み込んだ薬物速度論モデルの構築が可能となった．最終的には評価法を確立できたが，実験開始当初は，鼻中隔の摘出方法や顕微鏡下での観察手法，適用する微粒子の種類や適用方法，微粒子数や微粒子懸濁液容量の調整，画像撮影方法，微粒子移動速度の算出法等，多くの実験手技的な工夫や解析方法の考案が必要となり，苦労した．特に，開始後半年間は連日実験を続けてもうまく測定ができず，日々悩みながら工夫を重ねたのを今でもよく覚えている．

このように，博士前期課程では MC を定量評価できる実験系を確立できた満足感は多少あったものの，更に継続して経鼻吸収に関する研究を進めたいと思うようになった．そこで，博士前期課程での就職活動が開始する頃には，筆者は就職活動をせず，博士後期課程に進学したい旨を木村先生，檜垣和孝准教授（現教授），大河原賢一助教（現神戸薬科大学教授）にご相談させていただいた．木村先生が博士前期課程修了と同時にご退官され，博士後期課程からは檜垣先生のご指導の下で，継続した研究を行うことができた．博士後期課程への進学の際にも，檜垣先生のご厚意により，経鼻吸収に関する研究の継続ができたことで，筆者は経鼻投与一筋の研究人生を送ることができている．

また，博士後期課程へ進学すると同時に，東先生のご厚意からご縁をいただき，就実大学薬学部の助手として着任することとなった．

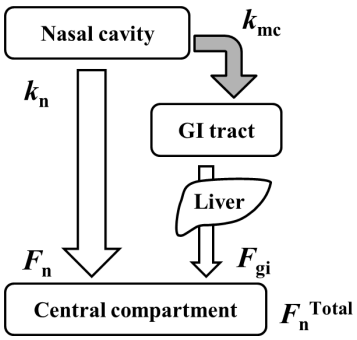

図 2　経鼻投与後の薬物吸収に関する薬物速度論モデル
The drug solution is translocated from the nasal cavity to the gastrointestinal (GI) tract by MC. Drug is absorbed from both the nasal cavity and GI tract following intranasal application. Key: k_n, absorption rate constant from nasal cavity; k_{mc}, disappearance rate constant by MC; F_n^{Total}, total bioavailability after intranasal administration; F_n, fractional absorption from nasal cavity; F_{gi}, fractional bioavailability from GI tract.

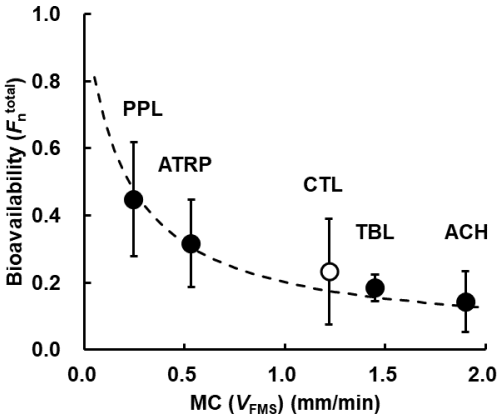

図 3　Norfloxacin 経鼻投与後の薬物吸収率（F_n^{total}）と鼻腔内 MC（V_{FMS}）との相関
Keys: PPL; propranolol, ATRP; atropine, TBL, terbutaline, ACH; acetylcholine chloride, CTL; control (PBS pretreatment). The dashed line indicates a fitting curve calculated from the observed values except for control, using the nonlinear least squares regression analysis program, MULTI.

5. 鼻腔内生理機能である MC を組込んだ薬物速度論モデルの構築および経鼻吸収予測システムの開発

博士後期課程では，それまでの研究を発展させる形で研究を継続した．鼻腔内生理機能である MC を定量評価できる *in vitro* 評価システムを構築できたため，この MC をパラメータとして薬物速度論モデルに組み込むことが可能となった．そこで，経鼻投与後の薬物吸収予測システムの開発を目指して，経鼻投与後の薬物速度論モデルを構築した．鼻腔内投与された薬物は，鼻粘膜吸収されると同時に，MC により咽頭側へと排出され，その後，消化管へと移行する．消化管移行した薬物は，経口投与時と同様に，一部は消化管粘膜から吸収される．このような MC を組込んだ経鼻投与後の薬物吸収過程を薬物速度論モデルとして構築した（図 2）[2].

次に，本モデルを用いた経鼻投与後の薬物吸収率の推定を試みた．吸収性評価のモデル薬物として難吸収性薬物 norfloxacin を選択して，norfloxacin 溶液を経鼻投与後の薬物吸収率を評価した．ラット鼻腔内を各種 MC 変動薬物で前処理することで，鼻腔内 MC 機能を促進あるいは阻害した場合，経鼻投与後の薬物吸収率が MC 変動の程度に応じて変化することが明示された（図 3）．本研究で構築した経鼻投与後の薬物速度論モデルを用いて，MC 変動時の薬物吸収率を推定した結果，理論曲線が実測値と類似することが明らかとなった．以上の成果から，鼻腔内 MC を組み込んだ経鼻投与後の薬物速度論モデルを利用することで，経鼻投与後の薬物吸収率を高精度に推定できる可能性が示された[3]．更に，様々な要因で変動する MC をパラメータとして組み込むことで，鼻腔内 MC 変動時であっても経鼻投与後の薬物吸収率を良好に推定できることを実験的に示すことができた．

実際に経鼻投与型製剤を開発する場合，投与薬物自体の薬理作用や投与製剤の剤形（粉末製剤，粘性製剤，溶液製剤など）の差異による鼻腔内 MC への影響は，経鼻投与後の薬物吸収性を変動させる大きな要因となることが推察される．これまで行ってきた一連の研究を通じて，鼻腔内 MC の変動は *in vitro* 系で比較的簡便に評価できるようになり，さらに，鼻腔内 MC 変動を考慮した薬物吸収予測システムを構築できたことで，経鼻投与後の薬物吸収性を簡便かつ高精度に予測できる可能性が示された．これら経鼻吸収予測システムの開発に関する研究成果をまとめることで，学位を取得することができた．

6. Nose-to-Brain 薬物送達システムの脳移行メカニズム解明に向けた研究

学位取得後，筆者自身の研究テーマを経鼻吸収性

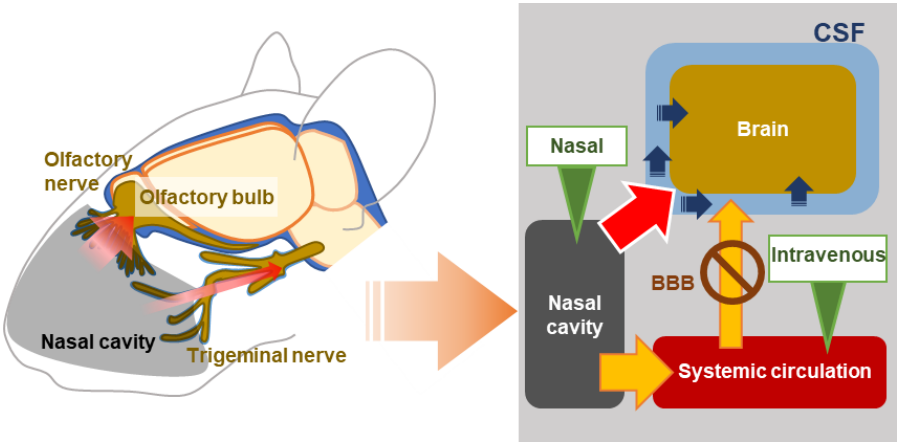

図 4　Nose-to-Brain 薬物送達において推察される鼻腔–脳直接的薬物移行経路

評価から少し広げたいと思うようになり，経鼻投与を主軸に置きながら見識を広げられる研究テーマはないかと考えるようになった．そこで，現在，中枢系疾患に対する新規治療法としての可能性から注目されている，鼻腔から脳への直接的薬物送達経路を利用した DDS 研究に筆者としても挑戦したいと思うようになった．

鼻腔にはニオイを感知する嗅神経が脳嗅球部より延伸しており，鼻腔と脳は篩板と介して組織学的に繋がっている．鼻腔内のこの領域は嗅神経領域（olfactory region）と呼ばれている．鼻腔内投与された薬物は，嗅神経領域から脳へと直接移行することが知られており，血液脳関門（BBB）等の脳関門系を迂回して脳へと薬物送達できることから，中枢系疾患に対する薬物治療戦略として経鼻投与が利用できる可能性が示唆されている．これまでに多種多様な低分子薬物やペプチド，核酸などが検討されており，経鼻投与により脳へと効率的に薬物送達されることが多数報告されている．筆者は，鼻腔から脳領域へと薬物が送達される鼻腔–脳薬物移行メカニズムの解明に焦点をあて，nose-to-brain 薬物送達研究における基礎的研究を行うこととした．鼻腔内投与後，薬物は主に嗅神経領域から嗅神経周辺部を介して脳内送達されることが知られている．嗅神経周辺部は脳脊髄液（CSF）で満たされているため，鼻腔から脳へと薬物送達される場合，主な薬物移行経路として，嗅神経領域から鼻粘膜を透過した薬物が嗅神経周辺部を満たす CSF へと移行後，脳実質へと輸送される移行経路が想定された．実際に，経鼻投与後の脳内薬物動態を脳部位別に評価したところ，鼻腔に近接する嗅球部で高い薬物移行が得られたのみではなく，脳深部に位置する海馬部においても比較的速やかに薬物送達されることが明らかとなった．本知見から，経鼻投与後，嗅神経領域から取り込まれた薬物は CSF へと移行し，CSF の脳内循環とともに脳実質内まで送達される鼻腔–脳薬物移行経路が推察された．更に詳細な検討を行うため，CSF の脳内循環が睡眠時および麻酔時で活性化されることに着目し，CSF 脳内循環の活性化が鼻腔から脳への薬物送達性に及ぼす影響を検討した．その結果，CSF 脳内循環が活性化される麻酔下では，経鼻投与後の鼻腔–脳直接移行による脳への薬物送達率が有意に増大することが明示された[4]．本知見から，経鼻投与された薬物は嗅神経領域から神経周辺部 CSF へと移行した後，CSF 脳内循環により脳実質内まで送達されることが推察された（図 4）．

7．経鼻投与型製剤の開発を目指して

現在，筆者は，菅野清彦教授が主宰される立命館大学薬学部の分子薬剤学研究室に所属している．本研究室においても，菅野先生のご厚意もあり，経鼻投与に関する研究の継続ができている．これまで筆者は薬物動態研究を主として研究を続けてきたが，現在では，これまでの研究に加えて，経鼻投与型製剤の開発を目指した製剤研究にも着手している．経鼻投与型製剤の開発においては，投与量の確保や鼻腔内滞留性の向上を目的として，粉末製剤化や製剤の粘性化，粘膜付着性物質の添加など，様々な製剤学的工夫が施される．

現在，筆者は，投与量の確保と鼻腔内滞留性の改

善が容易な粉末製剤に着目し，経鼻投与型粉末製剤の開発に資する基礎的研究を遂行している．粉末製剤の場合，投与薬物を鼻粘膜吸収させるためには，投与製剤の鼻腔内滞留時間内に，鼻腔内に少量存在する水分である鼻粘液中に薬物を溶解させる必要がある．有用な経鼻投与型粉末製剤の開発を目指す上で，製剤の鼻粘液に対する溶解性改善が重要な課題と想定された．そこで，種々難溶性低分子薬物をモデル薬物として選択し，各種ポリマーを添加した噴霧乾燥粉末製剤および真空乾燥粉末製剤を調製し，各種粉末製剤の鼻粘液に対する溶解挙動を評価した．その結果，ポリマー添加粉末製剤では，鼻粘液に対する溶解性が有意に向上した．このように，ポリマー添加し粉末製剤化することで鼻粘液に対する溶解性改善が可能であることが推察された．今後，継続研究を進める予定であるが，本研究を通じて，実利用可能な経鼻投与型製剤の開発に貢献できれば本望である．

8. おわりに

以上，本稿では，これまで筆者が行ってきた研究を踏まえつつ，筆者の研究人生の変遷を紹介した．筆者は，学部時代より現在まで，幸運なことに，経鼻投与，経鼻吸収に関する研究を一貫して継続することができた．今後もこれら経鼻研究を継続し，経鼻投与型製剤の開発促進に微力ながら貢献できればと思っている．

最後に，筆者が現在まで研究人生を継続できたのは，様々な恩師の先生方と出会い，ご指導ご支援を賜りましたお陰と感謝に堪えません．これまでの研究を継続するにあたり，終始ご指導を賜りました神戸薬科大学 坂根稔康教授，ご指導ご支援を賜りました，岡山大学薬学部 檜垣和孝教授，岡山大学 木村聰城郎名誉教授，神戸薬科大学 大河原賢一教授，古林呂之准教授をはじめ，多くの先生方，共同研究者の方々，ならびに，これまで所属した研究室の多くの卒業生，在校生に衷心より感謝申し上げます．

引用文献

1) D. Inoue, T. Furubayashi, K. Ogawara, T. Kimura, K. Higaki, H. Katsumi, T. Sakane, A. Yamamoto, Y. Higashi, *In vitro* evaluation of nasal mucociliary clearance using excised rat nasal septum, *Biol. Pharm. Bull*., **35** (6), 889–894 (2012).
2) D. Inoue, A. Tanaka, S. Kimura, A. Kiriyama, H. Katsumi, A. Yamamoto, K. Ogawara, T. Kimura, K. Higaki, R. Yutani, T. Sakane, T. Furubayashi, The relationship between *in vivo* nasal drug clearance and *in vitro* nasal mucociliary clearance: Application to the prediction of nasal drug absorption, *Eur. J. Pharm. Sci*., **117**, 21–26 (2018).
3) D. Inoue, S. Kimura, A. Kiriyama, H. Katsumi, A. Yamamoto, K. Ogawara, K. Higaki, A. Tanaka, R. Yutani, T. Sakane, T. Furubayashi, Quantitative estimation of the effect of nasal mucociliary function on *in vivo* absorption of norfloxacin after intranasal administration to rats, *Mol. Pharm*., **15** (10), 4462–4469 (2018).
4) D. Inoue, T. Furubayashi, A. Tanaka, T. Sakane, K. Sugano, Effect of cerebrospinal fluid circulation on nose-to-brain direct delivery and distribution of caffeine in rats, *Mol. Pharm*., **17** (11), 4067–4076 (2020).