

2101 イメージングによる鼻腔内投与D2Rリガンド中枢移行性の 間接的評価法

國頭 諒

(指導教員：川井 恵一 教授、水谷 明日香 助教)

要旨：薬剤の投与には様々な方法があるが、脳を標的とする薬剤において、血液を経由する投与方法では血液脳関門が診断薬や治療薬の脳内移行を制限するため、中枢へ移行できる薬剤は限られている。そのため、血液脳関門を介さず鼻腔から中枢へ直接移行させる鼻腔内投与が近年注目されている。本研究室では、静脈内投与した dopamine D2 receptor (D2R) 標識リガンドの脳内 D2R 結合率変化を指標として、鼻腔内投与薬剤の中枢移行性をイメージングで間接的に評価することを目的として検討してきた。高い中枢移行性と D2R 選択性が報告されている IBZM を標識 D2R リガンドとして用い、鼻腔内投与薬剤には血液脳関門への透過性が低い domperidone を選択して、鼻腔内投与モデルマウスに domperidone を鼻腔内投与した結果、¹²⁵I-IBZM の D2R 結合率低下が確認された。本研究では、domperidone の投与方法の違いによる中枢移行性を SPECT イメージングで評価するため、静脈内、鼻腔内にそれぞれ domperidone を投与したモデルマウスを作成し、¹²³I-IBZM を用いて撮像を行った。¹²³I-IBZM は高い標識率で得られ、SPECT 画像では D2R の発現量が高い線条体への特異的集積が認められた。¹²³I-IBZM の線条体集積を正常マウスと比較した結果、静脈内投与モデルマウスでは同程度の集積を示したのに対し、鼻腔内投与モデルマウスでは、投与後早期で集積の低下傾向が確認できた。以上より、¹²³I-IBZM の脳内 D2R 結合率変化を指標として、鼻腔内投与薬剤の中枢移行性および受容体親和性を SPECT イメージングで間接的に評価できる可能性が示された。

I. はじめに

薬剤の投与方法の中でも、経口投与や吸入投与、静脈内投与といった血液を経由する投与方法では、薬剤が脳に到達するために血液脳関門を透過する必要がある。血液脳関門には、血液と脳組織間の物質移動を調整する働きがあり、多くの薬剤はこの血液脳関門によって中枢への移行が阻害される。そのため、鼻粘膜から脳脊髄液を介して脳へ移行する、もしくは神経経路を介して脳へ移行すると考えられている鼻腔内投与が近年注目されている¹⁾。鼻腔内投与薬剤の中枢移行性を評価する方法には、薬剤を直接放射性標識する方法があるものの、薬剤の構造や性質を変えずに標識することは困難であり、より簡便な方法が求められる。

そこで本研究室では、鼻腔内投与した脳内 dopamine D2 receptor (D2R) を作用点とする薬剤の中枢移行性を間接的に評価する新たな手法として、あらかじめ静脈内投与した D2R 標識リガンドの脳内 D2R 結合率変化を指標として、鼻腔内投与薬剤の中枢移行性をイメージングにより間接的に評価することを目的として検討してきた。なお、D2R リガンドには高い中枢移行性と D2R 選択性

が報告されており、ヒトへ応用されている放射性ヨウ素標識 (S)-(-)-3-iodo-2-hydroxy-6-methoxy-N-[(1-ethyl-2-pyrroldinyl)-methyl]benzamide (IBZM)²⁻⁵⁾ を用い、鼻腔内投与薬剤には血液脳関門の透過性が低い domperidone を選択した。

これまでの検討により、domperidone の D2R 結合率評価実験では、D2R が高発現している線条体と D2R が発現していない小脳のマウスホモジネートを使用して D2R 結合率を算出した。その結果、線条体では特異的な結合が見られ、domperidone 負荷濃度に依存して D2R 結合率が低下しており、domperidone による IBZM の D2R 結合が阻害されていることが確認できた。また、マウス体内分布実験では、domperidone を解剖の 45 分前に鼻腔内投与、¹²⁵I-IBZM を解剖の 30 分前に静脈内投与した条件において、線条体の重量集積率と小脳比が有意に低下しており、鼻腔内投与された domperidone が投与後速やかに脳内に移行し、移行後短時間で脳内から排泄されることが確認できた。

本研究では、domperidone の投与方法の違いによる中枢移行性を SPECT イメージングで評価することを目的に、静脈内、鼻腔内にそれぞれ domperidone を投与したモデルマウスを作成し、¹²³I-IBZM を用いて SPECT 撮像を行った。

II. ¹²³I-IBZM による SPECT イメージング実験

A) 実験方法

鼻腔内投与薬剤の中枢移行性の評価において、従来用いられている液剤の点鼻投与では、誤飲が液剤の消化管吸収による血中移行を引き起こし、鼻腔内投与のみによる中枢移行を評価できない。そこで本実験では、誤飲を防ぎ鼻腔内に液剤を滞留させるために、平井らの方法⁶⁾に従い、気道確保用のカテーテルでマウスの気道を確保した上で、気管から鼻腔へ別のカテーテルを挿入し、薬剤を効率的に直接鼻腔に投与できる鼻腔内投与モデルマウスを作成した。また、標識 D2R リガンドである放射性ヨウ素標識 IBZM には、SPECT イメージングに適した ¹²³I-IBZM を用時標識して使用した。Kung らが報告した条件^{2, 3)}を参考に、酸化剤を chloramine-T に変更して ¹²³I-IBZM の標識、精製を行った。イメージング装置は、本学アイソトープ総合研究施設所有の小動物用 SPECT/PET/CT 装置 (Vector⁺/CT, U-SPECT-II, Milabs) を用いた。

4 時間絶食を施した ddY マウス (♂, 6 weeks, 日本 SLC) に対して、isoflurane (富士フィルム和光純薬) 麻酔下で静脈内投与モデルマウス、鼻腔内投与モデルマウスを作成し、撮影開始時に静脈内投与した ¹²³I-IBZM (15 MBq/100 μ L) の線条体における経時的集積を正常マウスと比較検討した。静脈内投与モデルマウスには、撮影開始時に domperidone (富士フィルム和光純薬) の 5% 酢酸溶液 20 μ L (2 mg/kg) を追加で静脈内投与し、5 min/frame で 90 分間 SPECT 撮像した。また、鼻腔内投与モデルマウスには、静脈内投与モデルマウスと同量の domperidone を、SPECT 撮像 15 分前に鼻腔に挿入したカテーテルから投与した。Control である正常マウスには、domperidone に代わり生理食塩水を負荷した。SPECT 撮像後、画像解析ソフト AMIDE (version1.0.4) を用いて D2R の発現量が高い線条体と D2R の発現量がきわめて低い小脳に関心領域 (volume of interest; VOI) を設定し、集積量の経時的変化を解析した。

B) 結果と考察

^{123}I -IBZM の標識を行った結果、標識率 71.3 %、放射化学的純度 95 %以上で ^{123}I -IBZM が得られた。

各条件における SPECT 撮像 25-30 分の axial 断面画像を抜粋して Fig. 1 に示す。また、Fig. 2 には正常マウスと比較した静脈内投与モデルマウスおよび鼻腔内投与モデルマウスの、線条体と小脳における経時的集積曲線を示す。

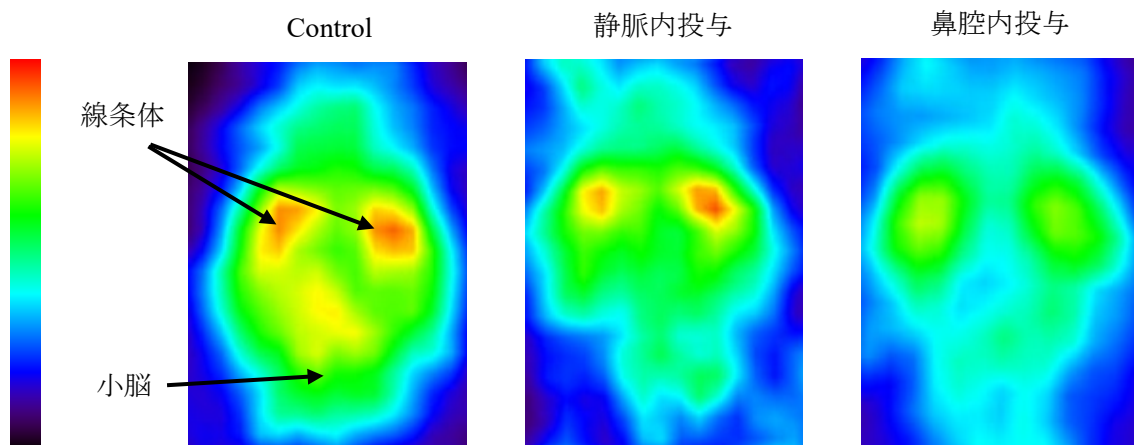


Fig. 1 ^{123}I -IBZM 投与後の SPECT 画像 (Axial, 25-30 min)

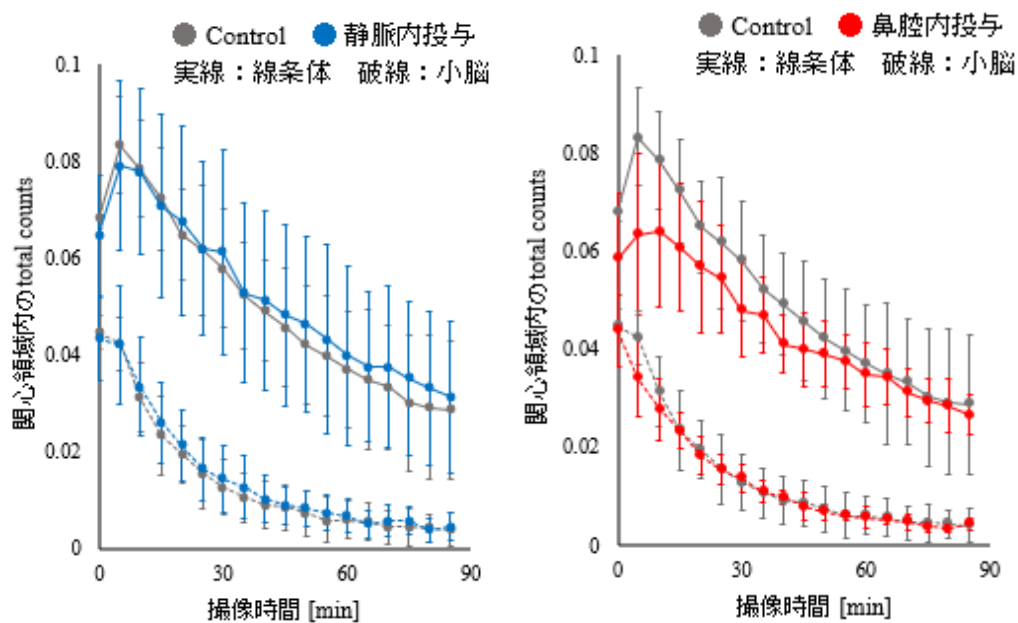


Fig. 2 ^{123}I -IBZM 投与後の経時的集積曲線 (実線：線条体, 破線：小脳)

SPECT 画像より、正常マウスと静脈内投与モデルマウスでは、D2R の発現量が高い線条体に高い集積が見られるが、鼻腔内投与モデルマウスのみ線条体への集積が低いことが視覚的に確認できた (Fig. 1)。また、経時的集積曲線より線条体への集積は、domperidone を負荷していない正常マウスと静脈内投与モデルマウスにおいて、投与後 5-10 分で集積が最も高くなり、その後時間経

過とともに減少したが、鼻腔内投与モデルマウスにおいては、投与後早期の集積が正常マウスと比べて低下しており、特にピーク時の集積に大きな差があることが確認できた (Fig. 2)。一方、D2R の発現量がきわめて低い小脳への集積は、条件によらず投与開始時が最も高く、時間経過とともに減少した。

したがって、domperidone は静脈内投与では脳内へ移行せず、鼻腔内投与によって脳内へ移行した domperidone が、IBZM の線条体 D2R への結合を阻害したことを SPECT イメージングで確認できた。

III. 結語

^{123}I -IBZM の脳内 D2R 結合率変化を指標として、鼻腔内投与 D2R リガンドの中枢移行性および受容体親和性を SPECT イメージングで間接的に評価できる可能性が示された。

IV. 謝辞

本研究を終えるにあたりご指導くださいました川井恵一教授、小林正和准教授、水谷明日香助教、ご協力いただきました本研究室の方々に心より御礼申し上げます。

V. 参考文献

- 1) 真田 真莉子. 経鼻薬物送達の現状と将来. *Folia Pharmacol Jpn.* 150: 148-152; 2017.
- 2) Kung FH, Kasliwal R, Pan S, et al. Dopamine D-2 receptor imaging radiopharmaceuticals: synthesis, radiolabeling, and in vitro binding of (R)-(+)- and (S)-(-)-3-iodo-2-hydroxy-6-methoxy-N-[(1-ethyl-2-pyrroldinyl)-methyl]benzamide. *J Med Chem.* 31: 1039-1043; 1988.
- 3) Kung FH, Alavi A, Chang W, et al. In vivo SPECT imaging of CNS D-2 dopamine receptors: Initial studies with iodine- ^{123}I -IBZM in humans. *J Nucl Med.* 31: 573-579; 1990.
- 4) Verhoeff NP, Bobeldijk M, Feenstra MG, et al. In vitro and in vivo D2-dopamine receptor binding with [^{123}I]S(-)iodobenzamide ([^{123}I]IBZM) in rat and human brain. *Nucl Med Biol.* 18: 837-846; 1991.
- 5) Toyama H, Ichise M, Ballinger JR, et al. Dopamine D2 receptor SPECT imaging: basic in vivo characteristics and clinical applications of ^{123}I -IBZM humans. *Ann Nucl Med.* 7: 29-38; 1993.
- 6) Hirai S, Yashiki T, Matsuzawa T, et al. Absorption of drugs from the nasal mucosa of rat. *Int J Pharm.* 7: 317-325; 1981.