

■受領No.1460

膜透過ペプチド固定化ヒアルロン酸を用いた非侵襲的成長ホルモン投与による成長ホルモン分泌不全症治療の可能性評価

代表研究者

伴野 拓巳

摂南大学 薬学部 特任助教 (受領時所属)

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社 薬物動態安全性研究部 研究員 (現所属)



Therapeutic potential of non-invasive growth hormone dosage using cell-penetrating peptide-linked hyaluronic acid against growth hormone deficiency

Principal Researcher

Takumi TOMONO,

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, Assistant Professor (Affiliation at the time of grant)

Pharmacokinetics and Non-Clinical Safety Dept., Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd., Research Staff (Current affiliation)

本研究では申請者らの開発した吸収促進剤であるテトラグリシン-L-オクタアルギニン固定化ヒアルロン酸 (G4R8-HA) を用いて、成長ホルモン (GH) 分泌不全症に対する非侵襲的 GH 補充療法を確立することを目的とした。同疾患モデルマウスに GH と G4R8-HA の混合溶液を経鼻投与することで GH 単独経鼻投与に対し有意な体重増加を示し、その増加率は GH 単独皮下投与時と同等であった。これらの結果から、GH 経鼻投与に G4R8-HA を併用することにより非侵襲的な GH 分泌不全症治療が可能となることが示唆された。

The purpose of this study is to develop a non-invasive growth hormone (GH) dosing methodology using tetraglycine-L-octaarginine-linked hyaluronic acid (G4R8-HA) against growth hormone deficiency. Intranasal administration of a mixture of GH and G4R8-HA significantly increased body weight of GH deficiency model mice compared with intranasal administration of GH alone, and the weight gain rate was equivalent to the case of subcutaneous administration of GH alone. These results indicate the potential of intranasal administration of GH combined with G4R8-HA for non-invasive therapy of GH deficiency.

1. 研究目的

成長ホルモン分泌不全症は、下垂体前葉機能低下症の一つであり、日本における指定難病に指定されている。現状、成長ホルモン分泌不全症の治療法は、遺伝子組換え天然型ヒト成長ホルモン (ソマトロピン) を皮下注射することにより、患者体内で産生もしくは十分に分泌されない成長ホルモンを補う補充療法のみである。一方、ソマトロピンはタンパク質であり高分子量かつ高水溶性の特徴を持つため細胞

膜透過性が極めて低く、経口投与などの経粘膜的投与方法では吸収が乏しく上述の通り侵襲性の高い皮下注射で投与されている。本治療法では、ソマトロピンを継続的に投与することにより正常な成長ホルモンの分泌リズムに近いパターンを作り出すため、最低でも週6日以上以上の投与を必要とする。また、多くの患者は自己注射により投与を行うこととなるものの、針恐怖症や先端恐怖症を有する患者においては皮下注射により肉体的な苦痛だけでなく精神的にも

大きな苦痛を強いられることから、自己注射が困難なケースも想定される。従って、本疾患治療においてはその投与方法が患者のQOLを大きく左右することとなるといっても過言ではない。このような背景から、ソマトロピンの細胞膜透過性を亢進させ、経鼻や経口投与等の侵襲性の低い経粘膜的投与方法を可能とする技術を確認することは本疾患治療に必要不可欠であると考えられる。申請者らはこれまでに、各種エンドサイトーシスの誘導を介して細胞に取り込まれる性質により、核酸やタンパク質をはじめとしたバイオ医薬の送達キャリアとして注目されている膜透過ペプチドに着目し、新規吸収促進剤として生体成分であるヒアルロン酸にテトラグリシンのスパーサーを介して膜透過ペプチドのひとつであるL-オクタアルギニンを化学結合により固定化したテトラグリシン-L-オクタアルギニン固定化ヒアルロン酸(G4R8-HA)(図1)を創製し、マウスにおいて本高分子を併用することでソマトロピンを含む様々なペプチド医薬の経鼻吸収が飛躍的に促進されることを明らかにしてきた。本研究では、成長ホルモン分泌不全モデル動物に対する同高分子を併用したソマトロピンの経鼻投与による治療効果を検証し、本技術を応用した非侵襲的成長ホルモン分泌不全症治療法の確立を目指すことを目的とした。

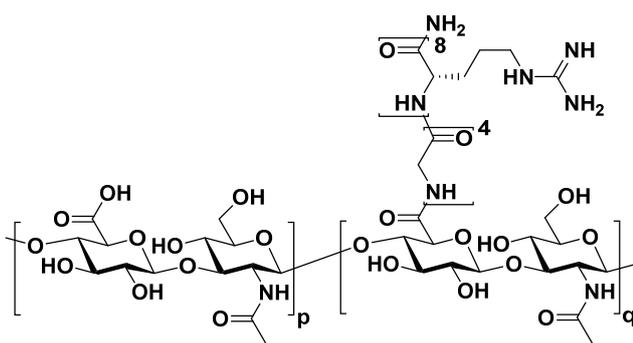


図1 テトラグリシン-L-オクタアルギニン固定化ヒアルロン酸の構造

2. 研究内容

2.1 成長ホルモン分泌不全モデルマウスにおけるG4R8-HAによるソマトロピンの経鼻吸収促進効果の検証

本研究では、成長ホルモン分泌不全モデルマウスとして5週齢において下垂体を摘出し成長ホルモンの分泌を抑制し、7週齢まで飼育した雄性ddYマウスを用いて検討を行った。

まず、これまでに正常マウスにおいて認められてきたG4R8-HAによるソマトロピンの経鼻吸収促進効果が成長ホルモン分泌不全モデルマウスにおいても認められるか否かについて検証を行った。同モデルマウスにソマトロピンを単独またはG4R8-HAと共に経鼻投与し、投与後4時間まで経時的に採血を行い遠心分離により血漿サンプルを得た。得られた血漿サンプル中のソマトロピン濃度を間接ELISA法により測定し、血漿中濃度推移からG4R8-HAによる経鼻吸収促進効果を評価した。検討の結果、先行研究の正常マウスで認められた結果と同様に成長ホルモン分泌不全モデルマウスにおいても単独経鼻投与ではソマトロピンの吸収はほとんど認められなかった。一方、G4R8-HAを共投与することにより顕著な血漿中濃度上昇が認められた(図2)。以上のことから、G4R8-HAは正常マウスだけでなく、成長ホルモン分泌不全モデルマウスにおいても経鼻吸収促進効果を発揮することが明らかになった。

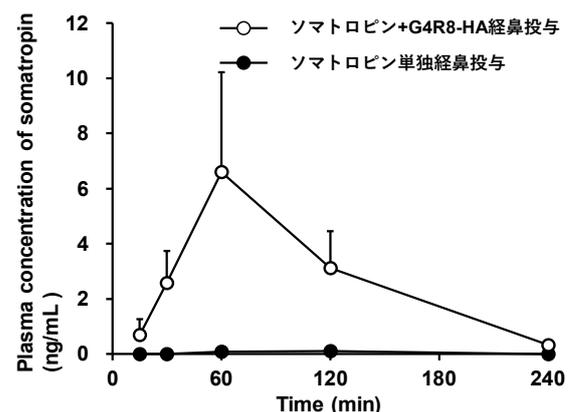


図2 経鼻投与後のソマトロピン血漿中濃度推移
n=4または5, ソマトロピン単独経鼻投与群の投与後240分値のみn=2の平均値で示してある。

2.2 G4R8-HAを用いたソマトロピン経鼻投与による成長改善の評価

上記の結果から、G4R8-HAを共投与すること

により成長ホルモン分泌不全病態下においても経鼻投与によるソマトロピンの吸収促進が可能であることが示されたことから、次にソマトロピンの連続投与による成長改善効果の検証を行った。同モデルマウスに対して6日間連続でソマトロピンを単独、またはG4R8-HAと共に経鼻投与を行った。また対照群として、溶媒のみを経鼻投与する群およびソマトロピンを皮下投与する群を加えて検討を行った。本検討では、成長ホルモン分泌不全症の症状の一つである低体重を評価の指標として、連日体重を計測し試験開始前の体重に対する増加率(% of initial body weight)を算出することで成長改善効果の比較を行った。その結果、ソマトロピン単独経鼻投与群では溶媒投与群と同様の体重推移であり、ほとんど体重増加が認められなかったのに対し、G4R8-HAを共経鼻投与することによりソマトロピン単独経鼻投与群に対して統計学的に有意な体重増加が投与後1日目から持続的に認められた。さらにその体重増加率はソマトロピンを皮下投与した場合と同等であることも明らかになった(図3)。

果と同様に成長ホルモン分泌不全病態下においてもG4R8-HAの併用によりソマトロピンの経鼻吸収が飛躍的に促進されることが明らかになった。さらに、その吸収促進効果に基づくと考えられる成長改善効果も皮下投与と同等に認められた。以上のことから、これまで皮下投与のみで行われていた成長ホルモン分泌不全症に対するソマトロピンの補充療法の一つとして、新たにG4R8-HAを併用した経鼻投与の有用性が示唆された。本投与方法は非侵襲的であり患者の苦痛の少ない投与を実現するとともに、針恐怖症などを有する患者のニーズに対しても非常に有用なものになると考えられる。今後は経鼻投与されたソマトロピンがどのようなメカニズムで皮下投与と同等の成長促進効果を示すのか、また成長ホルモン分泌不全症の多様な病態に対する本投与方法の有効性等について解析を進め、本技術の実用化を目指す。

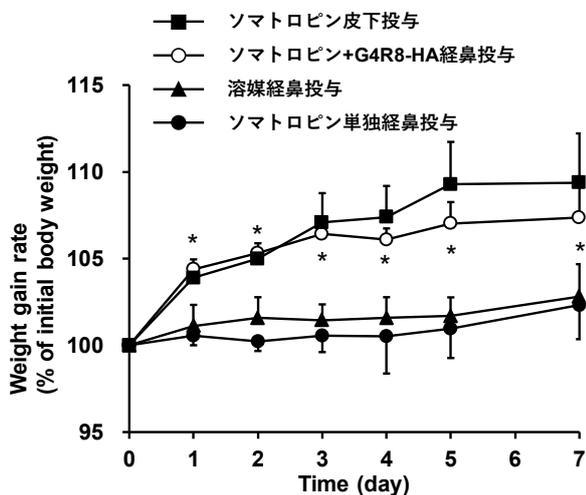


図3 ソマトロピン投与後の体重推移

n=4 または 5, 図中*は各時点におけるソマトロピン+G4R8-HA 経鼻投与群 (○) のソマトロピン単独経鼻投与群 (●) に対する有意差 ($p < 0.05$) およびソマトロピン皮下投与群 (■) との同等性 ($p \geq 0.05$) を示す。

2.3 まとめ

本研究成果から、申請者らのこれまでの研究成