

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：32425

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15493

研究課題名（和文）化学物質の代謝活性化によるアレルギー性接触皮膚炎発症の構造的要因の解明と発症予測

研究課題名（英文）Predictability of pathogenesis of allergic contact dermatitis based on specific chemical structure caused by metabolic activation.

研究代表者

浦丸 直人（URAMARU, NAOTO）

日本薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：90424069

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、市販後におけるアレルギー性接触皮膚炎の発症頻度が高く、皮膚に使用されている酸性非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）のアレルギー性接触皮膚炎の発症の回避をターゲットとして、代謝活性化制御を目標としたドラッグデザインに基づいた合成とその生物活性評価を目的とした。今回の検討では、目的とするトリフルオロメチル基が導入されたNSAIDs誘導体の合成とその生物活性評価には至っていないが、本研究での観点は、薬物アレルギー発症機序を化学物質の化学構造的側面から捉え、化学物質の構造的要因から薬物アレルギーの発症予測に繋がることを期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性接触皮膚炎（Allergic Contact Dermatitis）は医薬品、化粧品等で使用されている化学物質（環境化学物質を含む）により起因することが知られており、化学物質の使用前の薬物アレルギー発症予測は困難であり、薬物アレルギー反応を正確に予測する手段は見出されていない。本研究では、化学物質の生体内代謝反応と化学構造的要因から薬物アレルギー発症予測に寄与することを目的としている。

研究成果の概要（英文）：Drug allergy is rare, but seriously and potentially life-threatening. In this study, we designed several Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAIDs) compounds with substituents that were expected to avoid metabolic activation. Our research idea expects the validity of our strategy of blocking metabolic activation of NSAIDs by means of structural modification compounds that cannot be metabolically activated to bind to biomacromolecules and so do not show allergenicity.

研究分野：衛生薬学

キーワード：薬物アレルギー 薬物代謝 ドラッグデザイン 構造活性相関

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性接触皮膚炎 (Allergic Contact Dermatitis) は医薬品、化粧品等で使用されている化学物質 (環境化学物質を含む) により起因することが知られている。アレルギー性接触皮膚炎とは、外部からの化学物質等が抗原として繰り返し皮膚に接触し吸収され、感作された T リンパ球が関与する IV 型アレルギーに分類され、接触部位に炎症反応を起こす。発症には、感作相と惹起相の 2 つがあるとされている (Bourke *et al.*, *Br J Dermatol.*, 145, 877-885 (2001))。化学物質による薬物アレルギーでは、その原因化学物質である低分子化合物の代謝活性化と毒性との関連性についての報告はあるが、薬物アレルギー毒性発現を定量かつ正確に予測する手段は見出されていないのが現状である。この薬物アレルギーの特徴として、発生頻度は低い毒性が時として重篤であること、明確な投与量依存性が認められないこと、宿主依存性の反応であることなどが挙げられる。これらに加え、有効性の高い薬物アレルギー評価動物モデルがないことが医薬品・化粧品使用前での薬物アレルギー発症予測が立遅れている原因である。

低分子化学物質 (ハプテン) における薬物アレルギー発症仮説として、低分子化学物質が薬物アレルギー症状を惹起するには、生体高分子と不可逆的に共有結合を形成して抗原性を獲得すると考えられる。しかしながら、我々が日常使用する化学物質は反応性に乏しく、そのままの形では抗原とはなり得ず、生体内で代謝活性化を受け、代謝活性化体となり、生体高分子と結合することにより抗原性を獲得し、その抗原認識によって T 細胞を活性化すると提言されている [ハプテン化抗原認識機構] (Park *et al.*, *Toxicology*, 153, 39-60 (2000)) (図 1)。また、近年の報告では、化学物質が T 細胞受容体に特異的に親和性をもつことにより薬物アレルギー発症機構に関与していると提唱している [Pharmacological interaction concept (*p-i* concept)] (Pichler *et al.*, *Int Arch Allergy Immunol.*, 168, 13-24 (2015))。ハプテン化抗原認識反応については感作成立が前提であるが、*p-i* concept は抗原の感作は不要で、T 細胞を無作為に活性化する。これら 2 つの薬物アレルギー発症機序仮説に基づいて、化学物質の化学構造的要因が抗原化機構及び T 細胞受容体を介した薬物アレルギー発症に深く関連していると考えている。

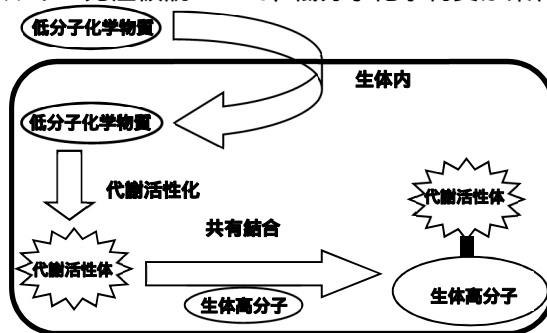


図1 低分子化合物のハプテン化抗原認識機構

2. 研究の目的

これまでに重篤な薬物アレルギーを惹起する医薬品であるピラゾロン系解熱鎮痛薬であるアンチピリンの代謝活性化中間体が、抗原性を示すことを明らかにし、アンチピリンの代謝的活性化を回避することを標的とした誘導体をドラッグデザイン・合成し、この誘導体の抗原性試験、代謝反応の検討、薬理 (解熱・鎮痛) 評価において、アンチピリンより優れている点を報告した (Uramaru *et al.*, *J Med Chem.*, 53, 8727-33 (2010))。また、化粧品中で最も汎用されている保存料であるパラベン類の肥満細胞におけるヒスタミン遊離作用の構造活性相関を検討し、構造的要因を報告した (Uramaru *et al.*, *J Toxicol Sci.*, 39, 83-90 (2014))。これまでの得られた研究成果も踏まえて、薬物アレルギー発症のための代謝活性化を考慮した化学構造的要因の規則性を見出し、精査することにより化学構造的側面からの薬物代謝を基盤とした薬物アレルギー発症予測に寄与することを目的とした。

薬物アレルギー発症機序の観点から化学物質の化学構造的要因が薬物アレルギー発症に深く関わっていると考え、市販後におけるアレルギー性接触皮膚炎の発症頻度が高く、消炎鎮痛剤として皮膚に使用される酸性非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) に着目し、モデル化学物質として選定した (接触皮膚炎診療ガイドライン、日皮会誌, 119(9), 1757-1793 (2009))。これらに共通する化学構造の特徴として

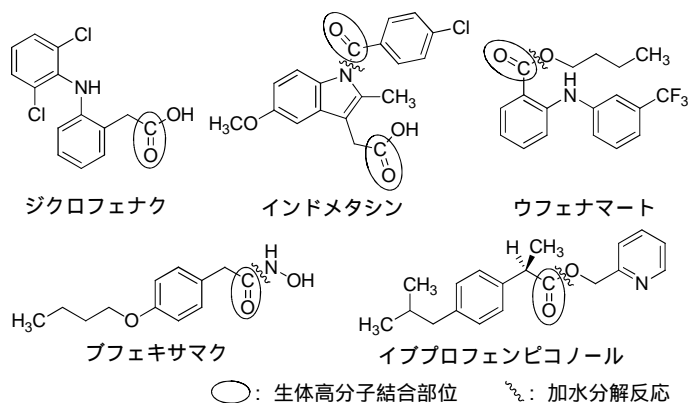


図2 NSAIDsの代謝活性化による抗原性獲得

カルボキシ基が挙げられる (図 2)。生体内に取り込まれた NSAIDs のカルボキシ基、アミド基またはエステル基が代謝活性化を受け、活性化されたカルボニル基が生体高分子のアミノ基と共有結合することにより抗原性を獲得していると考えた。本研究では、NSAIDs が代謝活性化を受け、生体高分子と結合し、抗原性を獲得していることを明らかにするとともに、代謝活性化を回避することを目的として NSAIDs のカルボキシ基をトリフルオロメチル基 (CF₃ 基) に置換

することにより、生体内での代謝活性化制御を目論んだ NSAIDs 誘導体を合成し、アレルギー性接触皮膚炎発症を回避した NSAIDs 誘導体の合成と評価を計画した。

3. 研究の方法

副作用としてアレルギー性接触皮膚炎を誘発する NSAIDs の副作用回避を標的とした NSAIDs 誘導体の合成を標的とした分子設計及びその合成として、NSAIDs のカルボキシ基をトリフルオロメチル基に置換する。合成経路は、原料である NSAIDs (エステル体またはアミド体の NSAIDs は加水分解処理した後) のカルボキシル基に対して、フッ素化試薬である 4-*tert*-Butyl-2,6-dimethylphenylsulfur

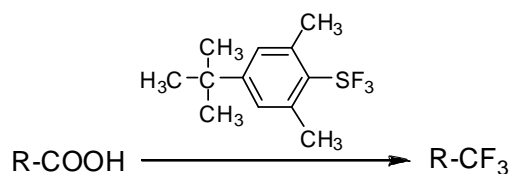


図3 ドラッグデザインに基づく合成計画

Trifluoride (東京化成、FLUOLEAD™) を用いて目的の NSAIDs 誘導体を合成する (Umemoto *et al.*, *J. Am Chem Soc.*, **132**, 18199-18205, (2010)) (図3)。トリフルオロメチル基の有機分子への導入は、酸化的代謝の抑制のみならず、脂溶性の向上、高い電子吸引性効果、置換基としての特徴的な大きさが賦与され、新たな薬理効果の発現、生体内での吸収輸送の改善、作用選択性の向上の可能性も期待できる。ジクロフェナクとイブプロフェンについて、トリフルオロメチル化誘導体の合成を検討した。ジクロフェナクまたはイブプロフェン (1 mmol) と 4-*tert*-Butyl-2,6-dimethylphenylsulfur Trifluoride (3 mmol) をテフロン性耐圧容器に入れ、100 °C にて反応させた。その後、10%水酸化ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル) で精製した。

4. 研究成果

ジクロフェナクとイブプロフェンについて、反応時間、温度について検討した結果、目的とするトリフルオロメチル基が導入された NSAIDs 誘導体の合成とその生物活性評価には至っていない。市販後調査による薬物アレルギー発症報告、生活環境中で頻用される化学物質に起因する薬物アレルギー発症報告は跡を絶たない。本研究での観点は、薬物アレルギー発症機序を化学物質の化学構造的側面から捉え、化学物質の構造的要因から薬物アレルギーの発症予測に繋がることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tseng Ching-Chun, Chung Cheng-Yen, Tsai Shuo-En, Takayama Hiroyuki, Uramaru Naoto, Lin Chin-Yu, Wong Fung Fuh	4. 巻 25
2. 論文標題 Selective Synthesis and Photoluminescence Study of Pyrazolopyridopyridazine Diones and N-Aminopyrazolopyrrolopyridine Diones	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2409 ~ 2409
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25102409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Uramaru Naoto, Chang En-Chiuan, Yen Wan-Ping, Yeh Mou-Yung, Juang Shin-Hun, Wong Fung Fuh	4. 巻 12
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of in vitro bioactivity for polysubstituted N-arylpyrazole derivatives	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arabian Journal of Chemistry	6. 最初と最後の頁 1908 ~ 1917
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.arabjc.2014.12.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fujino Chieri, Watanabe Yoko, Sanoh Seigo, Nakajima Hiroyuki, Uramaru Naoto, Kojima Hiroyuki, Yoshinari Kouichi, Ohta Shigeru, Kitamura Shigeyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Activation of PXR, CAR and PPAR by pyrethroid pesticides and the effect of metabolism by rat liver microsomes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e02466 ~ e02466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2019.e02466	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujino Chieri, Watanabe Yoko, Sanoh Seigo, Hattori Shoko, Nakajima Hiroyuki, Uramaru Naoto, Kojima Hiroyuki, Yoshinari Kouichi, Ohta Shigeru, Kitamura Shigeyuki	4. 巻 133
2. 論文標題 Comparative study of the effect of 17 parabens on PXR-, CAR- and PPAR -mediated transcriptional activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food and Chemical Toxicology	6. 最初と最後の頁 110792 ~ 110792
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fct.2019.110792	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hsiao Rong-Hong, Tseng Ching-Chun, Xie Jia-Jun, Tsai Shuo-En, Uramaru Naoto, Lin Ching-Ya, Chern Ching-Yuh, Wong Fung Fuh	4. 巻 75
2. 論文標題 Selective synthesis of functionalized pyrazoles from 5-amino-1H-pyrazole-4-carbaldehydes with sodium nitrite: 5-Amino-4-nitrosopyrazoles and pyrazole-4-carbaldehydes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 4561 ~ 4569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2019.06.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Watanabe Yoko, Emori Chihiro, Uramaru Naoto, Fujimoto Nariaki, Kitamura Shigeyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Study of metabolic activation of the UV-filter octyl methoxycinnamate for endocrine-disrupting activity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Fundamental Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 185 ~ 193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/fts.5.185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kojima Hiroyuki, Takeuchi Shinji, Sanoh Seigo, Okuda Katsuhiko, Kitamura Shigeyuki, Uramaru Naoto, Sugihara Kazumi, Yoshinari Kouichi	4. 巻 413
2. 論文標題 Profiling of bisphenol A and eight of its analogues on transcriptional activity via human nuclear receptors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxicology	6. 最初と最後の頁 48 ~ 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tox.2018.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsai Shuo-En, Yen Wan-Ping, Tseng Ching-Chun, Xie Jia-Jun, Liou Ming Yu, Li Yi-Ting, Uramaru Naoto, Wong Fung Fuh	4. 巻 74
2. 論文標題 Efficient acid catalytic synthesis of pyrazolopyrimidines from 1 H -pyrazol-5-yl- N , N - dimethylformamidines with cyanamide	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 2787 ~ 2791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2018.04.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujimoto Nariaki, Kitamura Shigeyuki, Uramaru Naoto, Miyagawa Shinichi, Iguchi Taisen	4. 巻 286
2. 論文標題 Identification of hepatic thyroid hormone-responsive genes in neonatal rats: Potential targets for thyroid hormone-disrupting chemicals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Toxicology Letters	6. 最初と最後の頁 48 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2018.01.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jiang Wen-Ping, Huang Shyh-Shyun, Matsuda Yoshikazu, Saito Hiroshi, Uramaru Naoto, Ho Hui-Ya, Wu Jin-Bin, Huang Guan-Jhong	4. 巻 22
2. 論文標題 Protective Effects of Tormentic Acid, a Major Component of Suspension Cultures of <i>Eriobotrya japonica</i> Cells, on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 830 ~ 830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22050830	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yen Wan-Ping, Tsai Shuo-En, Uramaru Naoto, Takayama Hiroyuki, Wong Fung	4. 巻 22
2. 論文標題 One-Flask Synthesis of Pyrazolo[3,4-d]pyrimidines from 5-Aminopyrazoles and Mechanistic Study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 820 ~ 820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22050820	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Masuda Akane, Masuda Miyabi, Kawano Takuya, Kitsunai Yoko, Nakayama Haruka, Nakajima Hiroyuki, Kojima Hiroyuki, Kitamura Shigeyuki, Uramaru Naoto, Hosaka Takuomi, Sasaki Takamitsu, Yoshinari Kouichi	4. 巻 137
2. 論文標題 Construction of the Database of Rat Repeated-dose Toxicity Tests of Pesticides for the Toxicological Characterization of Hepatocyte Hypertrophy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 611 ~ 622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.16-00259	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsubara Kana, Nakamura Naoki, Sanoh Seigo, Ohta Shigeru, Kitamura Shigeyuki, Uramaru Naoto, Miyagawa Shinichi, Iguchi Taisen, Fujimoto Nariaki	4. 巻 37
2. 論文標題 Altered expression of the O1r59, Ethe1, and Slc10a2 genes in the liver of F344 rats by neonatal thyroid hormone disruption	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Applied Toxicology	6. 最初と最後の頁 1030 ~ 1035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3452	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsai Shuo-En, Lee Jang-Chang, Uramaru Naoto, Takayama Hiroyuki, Huang Guan-Jhong, Wong Fung Fuh	4. 巻 28
2. 論文標題 Synthesis and antiproliferative activity of 3-hydroxyl-3-methoxymethyl-5-pregnan-20-one with a C-21 hydrophilic substituent	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Heteroatom Chemistry	6. 最初と最後の頁 e21372 ~ e21372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hc.21372	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Maekawa F., Kimura E., Uramaru N., Suzuki G.
2. 発表標題 Common behavioral characteristics in the mice maternally exposed to different types of dioxins.
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura E., Uramaru N., Suzuki G., Mekawa F.
2. 発表標題 Behavioral impairments of infant and adult mice exposed to 2,3,7,8-tetrabromodibenzofuran in utero and via lactation.
3. 学会等名 58th Annual Meeting and ToxExpo (Society of Toxicology) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦丸 直人, 坂本 佳澄, 鈴木 智貴, 木根淵 有香, 川村 涼, 渡部 容子, 北村 繁幸, 樋口 敏幸
2. 発表標題 ラズベリケートンの還元的代謝および3T3-L1 細胞の脂肪化抑制
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小畑 りさ, 種田 千夏, 村橋 毅, 浦丸 直人, 長部 誠, 渡部 容子, 樋口 敏幸
2. 発表標題 PM2.5由来抽出物質によるTissue factor の発現誘導
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村栄輝, 鈴木剛, 浦丸直人, 前川文彦
2. 発表標題 環境中に存在する臭素系ダイオキシンの発達期曝露により誘導される行動異常
3. 学会等名 第189回日仏生物学会例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浦丸 直人, 島田 沙保, 厚川 雄大, 渡部 容子, 樋口 敏幸
2. 発表標題 高脂肪食負荷および通常食ラットにおけるシトクロムP450 活性/ 発現の比較検討
3. 学会等名 フォーラム2018 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浦丸 直人, 上田 志帆, 小林 寛秀, 山本 税, 横田 賢治, 渡部 容子, 立花 研, 樋口 敏幸
2. 発表標題 ラット高脂肪食負荷によるシトクロムP450活性変動への影響
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----