

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16294

研究課題名(和文)急性および慢性の痒みに対するペランパネルの効果

研究課題名(英文)Effect of perampanel on acute and chronic itch in mice

研究代表者

治田 彩香 (Haruta-Tsukamoto, Ayaka)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：80773316

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：AMPA/カイン酸受容体が痒みの情報伝達において重要な役割を果たしていることが知られているが、AMPA受容体の正確な役割はまだ不明である。ペランパネルはAMPA受容体に対し高選択非競合的に結合することでその効果を発揮する抗てんかん薬である。ペランパネルの髄腔内投与によって、クロロキンの皮下注射により誘発される引っ掻き行動(急性の痒み)、接触皮膚炎モデルマウスとアトピー性皮膚炎モデルマウスの引っ掻き行動(慢性の痒み)が抑制された。本研究の結果から、AMPA受容体がマウスの急性および慢性の痒みの情報伝達において重要な役割を果たしており、ペランパネルが痒みを軽減する候補薬となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痒みは生活の質にも影響を及ぼす不快な感覚でありながら、健康障害としては軽視されてきた歴史的背景がある。近年、病的な痒みの重篤度が世界的に周知されるようになり、脳内報酬系との関与をはじめ、痒みの基礎研究も活発になってきたが、中枢神経系が深く関与している難治性痒みの発症メカニズムやその治療法は未だ解明されていない。本研究から、AMPA受容体がマウスの急性および慢性の痒みの情報伝達において重要な役割を果たしており、抗てんかん薬であるペランパネルがヒトの痒みを軽減する候補薬となる可能性が示唆された。いわゆるドラッグ・リポジショニング(既存薬再開発)の可能性を強く示唆する結果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is well known that it exerts its effects by binding to various glutamate receptors including α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors, and that AMPA/kainate receptors play a crucial role in pruriceptive processing; however, the precise role of AMPA receptors remains uncertain. Perampanel, an antiepileptic drug, is an antagonist of AMPA receptors. Pretreatment with perampanel dose-dependently attenuated the induction of scratching, a behavior typically associated with pruritus, by intradermal administration of the pruritogen chloroquine. In addition, the induction of scratching in mice painted with diphenylcyclopropenone and NC/Nga mice treated with Biostir AD, animal models of contact dermatitis and atopic dermatitis, respectively, was dose-dependently alleviated by administration of perampanel. These findings indicate that AMPA receptors play a crucial role in pruriceptive processing in mice with acute or chronic pruritus.

研究分野：精神神経科学

キーワード：痒み AMPA受容体 ペランパネル引っ掻き行動 マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

痒みの基礎研究は世界的に盛んになりつつある。最初の報告は GRPR(Gastrin-releasing peptide receptor)を欠損したマウスでは痛みに対する反応は正常で、痒み刺激には殆ど反応しないという報告で、GRP が痒みの伝達に関与していることが示唆された (Sun Y.G, *et al.*, Nature 2007)。続いて、Nppb(neuropeptide natriuretic polypeptide b)の発現を欠くマウスでは痛み刺激には応答するが、痒み刺激に応答しないと報告され、Nppb が痒み刺激を伝達するペプチドとされた (Mishra S.K, *et al.*, Science 2013)。研究代表者が所属する研究室では、hemokinin-1 (HK-1) が痒みの伝達に関与しているペプチドであることを報告している (Funahashi H, *et al.*, Neuroscience 2014)。さらに、抗うつ薬であるセロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI) の髄腔内投与により慢性の痒みが緩和されることを明らかにしている (宮原ら, 国際疼痛学会 2016)。しかしながら、臨床的に使用できる掻痒治療薬はほんのわずかである。

2. 研究の目的

過去の報告から、グルタミン酸 AMPA/kainate (AMPA/KA) 受容体が痒みの情報処理に関与していることが示唆されている (Akiyama T, *et al.*, Pain 2014)。[2-(2-oxo-1-phenyl-5-pyridin-2-yl-1,2-dihydropyridin-3-yl) benzonitrile] (ペランパネル) は、AMPA 受容体に対して高選択非競合的に結合し、この受容体に対するグルタミン酸の結合を阻止することによってその効果を発揮する抗てんかん薬である。そこで今回、ペランパネルの抗掻痒効果に関する行動薬理学的実験により、ペランパネルの抗掻痒薬としての可能性を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、掻痒誘発物質の皮下投与による急性の痒み、および慢性の痒みに対するペランパネルの髄腔内および腹腔内投与の効果を明らかにしようとするものである。具体的には以下の方法で進めた。

(1) 急性の痒みに対する NBQX の効果

雄性 C57BL/6J マウスを使用し、AMPA/KA 受容体拮抗薬である 2,3-Dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[*f*]quinoxaline-7-sulfonamide disodium salt (NBQX) の急性の痒みに対する抗掻痒効果を評価した。掻痒誘発物質であるヒスタミンまたはクロロキン(非ヒスタミン依存性)を頸背側部に皮下注射することで急性の痒みを誘発し、後肢での引っ掻き行動の回数を 30 分間測定することで痒みの程度を評価した (Sun Y.G, *et al.*, Science 2009)。本実験においては、NBQX を髄腔内注射した後に掻痒誘発物質を投与した。

(2) 急性の痒みに対するペランパネルの効果

(1)と同様に、雄性 C57BL/6J マウスを使用し、ペランパネルの急性の痒みに対する抗掻痒効果を評価した。ペランパネルは Dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解した後、生理食塩水で希釈した。ペランパネルを髄腔内注射した後に、掻痒誘発物質を投与した。

(3) 接触皮膚炎モデルマウスの痒みに対するペランパネルの効果

雄性 C57BL/6J マウスを使用し、接触皮膚炎モデルマウスが呈する慢性の痒みに対するペランパネルの抗掻痒効果を評価した。過去の論文で報告されたプロトコールに沿って、Diphenylcyclopropanone(DCP)溶液を頸部背側に塗布することで接触皮膚炎モデルマウスを作成し (Miyahara Y, *et al.*, Eur J Pharmacol 2020)、自動掻痒行動測定装置 (MicroAct[®]) により引っ掻き行動を測定した。MicroAct[®] は、後肢に直径 1 mm、長さ 3 mm のテフロンコーティング付測定用マグネットを埋め込んだマウスを、コイル型磁場変化検出器を装着した円筒型の観察容器 (直径 11 cm、高さ 18 cm) に入れ、磁石の動きによる磁場変化で生じるコイル電流を増幅し、電位変換後、コンピューターによって解析するシステムである (安藤ら, 日薬理誌 2007)。電位変動の中から、過去の論文で報告されたパラメーターを使用して引っ掻き行動の特徴を有する波形を抽出した (Inagaki N, *et al.*, Eur J Pharmacol 2002)。

(4) アトピー性皮膚炎モデルマウスの痒みに対するペランパネルの効果

雄性 NC/Nga マウスを使用し、アトピー性皮膚炎モデルマウスが呈する慢性の痒みに対するペランパネルの抗搔痒効果を評価した。過去の論文で報告されたプロトコルに沿って、Sodium dodecyl sulfate 溶液およびダニ抗原であるピオスタ AD^R を塗布することでアトピー性皮膚炎モデルマウスを作成し (Yamamoto M, *et al.*, Arch Dermatol Res 2009) MicroAct^R を用いて引っ掻き行動を測定した。

4. 研究成果

(1) 急性の痒みに対する NBQX の効果

$5 \times 10^{-1} \mu\text{g} / 5 \mu\text{l}$ および $5 \mu\text{g} / 5 \mu\text{l}$ の NBQX の前投与により、クロロキン誘発性の引っ掻き行動は濃度依存的に抑制され (図 1A)、NBQX ($5 \mu\text{g} / 5 \mu\text{l}$) の前投与によるクロロキン誘発性の引っ掻き行動の抑制効果は、少なくとも 5 分間持続した (図 1B)。また、その効果はヒスタミン誘発性の急性の引っ掻き行動に対しても同程度であった (図 1C、1D)。

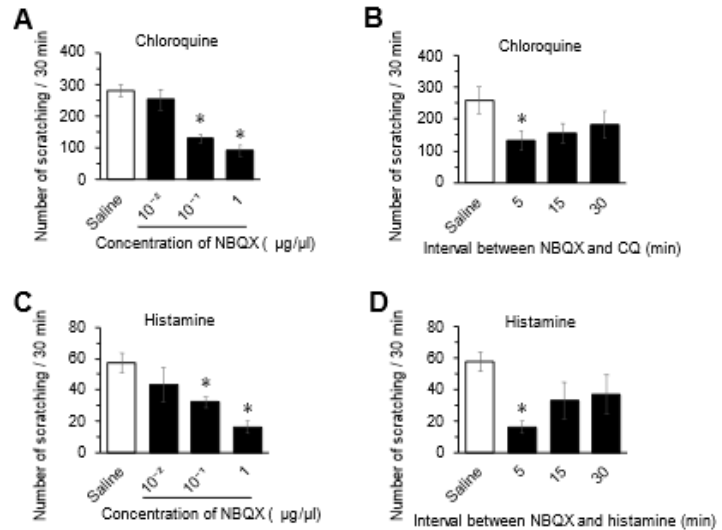


図 1

(2) 急性の痒みに対するペランパネルの効果

ペランパネル ($10^{-4} \sim 1 \times 5 \mu\text{g} / 5 \mu\text{l}$) の前投与により、クロロキン誘発性の引っ掻き行動は濃度依存的に抑制され (図 2A)、ペランパネル ($5 \mu\text{g} / 5 \mu\text{l}$) の前投与によるクロロキン誘発性の引っ掻き行動の抑制効果は、少なくとも 720 分間持続した (図 2B)。一方、ヒスタミン誘発性の引っ掻き行動はペランパネルの前投与で抑制されなかった (図 2C、2D)。

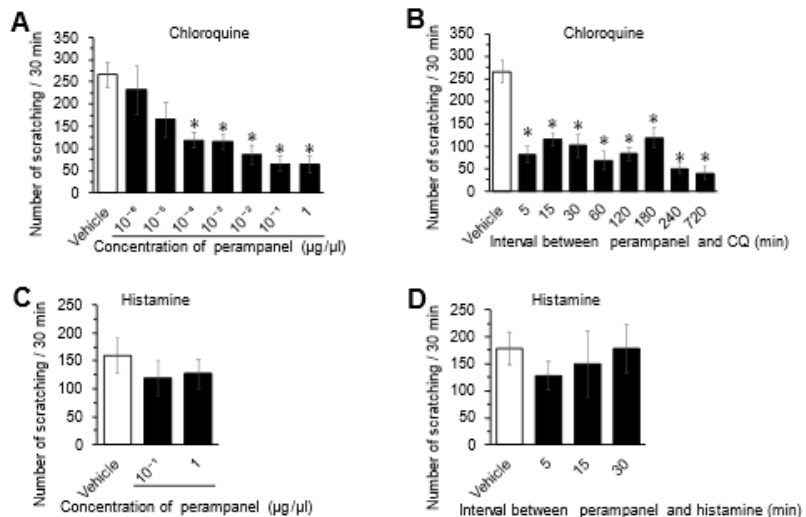


図 2

(3) 接触皮膚炎モデルマウスの痒みに対するペランパネルの効果

DCP を塗布する前のマウスに DMSO ($5 \mu\text{l}$) またはペランパネル ($5 \mu\text{g} / 5 \mu\text{l}$) を髄腔内投与したところ、活動性の低下は認められなかったが、それぞれの引っ掻き行動は 2 時間で 2 回程度とごくわずかであった (図 3A)。DCP を塗布したマウスの引っ掻き行動は、DCP 塗布 1 回目から 2 回目の塗布後 7 日目にかけて経時的に増加した (図 3B)。DCP を塗布していないマウスでも若干

の自発的な引っ掻き行動は記録されたが(図 3C、上段)、DCP を塗布したマウスでは一連の引っ掻き行動が間欠的に発生し(図 3C、中段) ペランパネル(5 μ g/5 μ l)を投与することにより引っ掻き行動の回数が減少した(図 3C、下段)。DCP の塗布開始後 14 日目に DMSO (5 μ l) を髄腔内投与したマウスの引っ掻き行動は、明期より暗期で多く認められた(図 3D、Vehicle)。暗期の引っ掻き行動の回数は明期の約 2 倍で、暗期と明期のこの違いは 1 日目と 2 日目

でも同様であった(図 3E、Vehicle)。ペランパネル(5 μ g/5 μ l)の投与により、暗期と明期ともに引っ掻き行動は減少したが、特に暗期において著しい抑制効果を認められた(図 3D、3E、Perampanel)。また、ペランパネル(5 $\times 10^{-2}$ ~ 5 μ g/5 μ l)の髄腔内投与は濃度依存的に引っ掻き行動を抑制した(図 3F)。

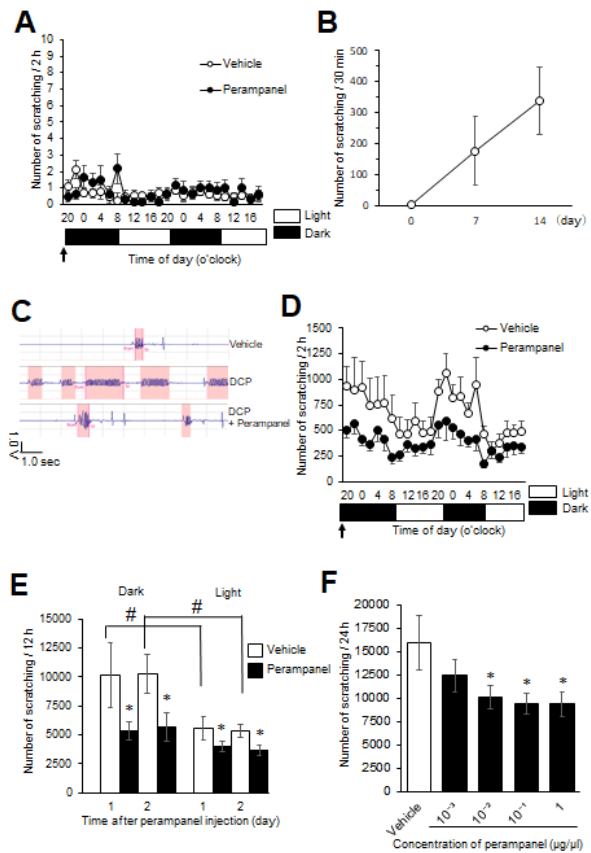


図 3

(4) アトピー性皮膚炎モデルマウスの痒みに対するペランパネルの効果

引っ掻き行動は、ピオスタ AD^R塗布の 1 回目(0 日目)から、6 回目の塗布後 3 日目(21 日目)にかけて経時的に増加し(図 4A)、明期より暗期でわずかに引っ掻き行動が多い傾向を示した(図 4B、Vehicle)。ペランパネル(5 μ g/5 μ l)を髄腔内注射し、引っ掻き行動の回数を 1 時間毎、計 7 日間測定したところ、暗期と明期全体で引っ掻き行動の回数が減少したが、明期での引っ掻き行動の抑制はわずかであった(図 4B、Perampanel)。1 日毎で分析すると、ピオスタ AD^Rを塗布したマウスの引っ掻き行動の回数は 6 日間変化せず、7 日目にわずかに減少した(図 4C、Vehicle)。ペランパネルの投与から 6 日目まで引っ掻き行動が有意に減少したが、7 日目で対照群と同程度となった(図 4C、Perampanel)。ピオスタ AD^Rを塗布したマウスにおいて、暗期での引っ掻き行動の回数は明期より多く認め(図 4D、4E、Vehicle)。暗期、明期いずれにおいてもペランパネル(5 μ g/5 μ l)の投与から 5~6 日間引っ掻き行動は有意に減少した(図 4D、4E、

Perampanel) また、 $5 \times 10^{-1} \mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ および $5 \mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ のペランパネルの髄腔内投与は濃度依存的に引っ掻き行動を抑制した(図 4F)。

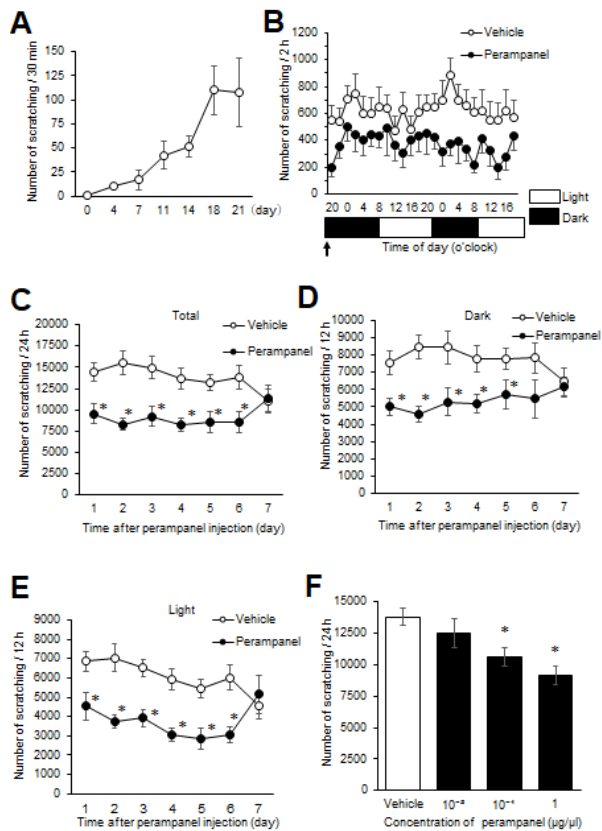


図 4

NBQX の抗搔痒効果については、他の AMPA/KA 受容体拮抗薬である CNQX がヒスタミンおよびクロロキンによる引っ掻き行動を抑制したという過去の報告と一致した (Akiyama T, *et al.*, Pain 2014)。一方、ペランパネルの髄腔内投与ではヒスタミンの皮下注射により誘発される引っ掻き行動に有意な変化はみられなかった。NBQX と CNQX が AMPA/KA 受容体の拮抗薬であり、ペランパネルが AMPA 受容体の拮抗薬であることを考慮すると、これらの結果は、AMPA 受容体がクロロキンによる急性の痒みの情報伝達に寄与する一方で、KA 受容体は急性の痒みに対して AMPA 受容体とは異なる役割を果たしている可能性を示唆するものと考えられた。

接触皮膚炎モデルマウスおよびアトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた実験において、ペランパネルが慢性的な痒みに対しても抑制効果を発揮する可能性が示唆された。抗搔痒効果を示すペランパネルの濃度は、急性の痒みより慢性の痒みで高濃度であったことから、急性の痒みに比べ慢性の痒みの病態において中枢神経系に発現する AMPA 受容体の数が増加しており、痒みの抑制のために高濃度のペランパネルが必要であったのではないかと考えた。また、アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた実験において、ペランパネルの髄腔内投与後比較的長い抗搔痒効果の持続を認め、ペランパネルのヒトでの体内消失半減期が約 105 時間という薬理学的特徴を反映していると考えられた。

この研究では、慢性の痒みを呈する動物モデルとして接触皮膚炎モデルマウスとアトピー性皮膚炎モデルマウスを使用したが、それぞれの引っ掻き行動誘発には違いがみられた。接触皮膚炎のモデルマウスにおける引っ掻き行動は明期よりも暗期に多くみられたが、アトピー性皮膚炎モデルマウスでは暗期と明期の間でそれほど大きな違いはみられず、昼夜問わず引っ掻き行動が続くことが判明した。接触皮膚炎とアトピー性皮膚炎の病態のメカニズムの違いは不明であるが、今回得られた知見は、痒みと睡眠の関係の解明に役立つ可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyahara Y, Funahashi H, Haruta-Tsukamoto A, Kogoh Y, Kanemaru-Kawazoe A, Nishimori T, Ishida Y.	4. 巻 911
2. 論文標題 Roles of 5-HT 3 and 5-HT 7 receptors in acute pruriceptive processing in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal Pharmacology	6. 最初と最後の頁 174513
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2021.174513. Epub 2021 Sep 20.	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 Haruta-Tsukamoto Ayaka, Miyahara Yu, Funahashi Hideki, Nishimori Toshikazu, Ishida Yasushi	4. 巻 533
2. 論文標題 Perampanel attenuates scratching behavior induced by acute or chronic pruritus in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1102-1108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.09.109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Miyahara Y, Funahashi H, Naono-Nakayama R, Haruta-Tsukamoto A, Muroi C, Kogoh Y, Nishimori T, Ishida Y	4. 巻 883
2. 論文標題 Serotonin and noradrenaline modulate chronic itch processing in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal Pharmacology	6. 最初と最後の頁 173319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2020.173319. Epub 2020 Jun 30.	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 Funahashi H, Miyahara Y, Haruta-Tsukamoto A, Matsuo T, Naono-Nakayama R, Ebihara K, Nishimori T, Ishida Y.	4. 巻 124
2. 論文標題 Pharmacological characteristics of hemokinin-1-derived peptides in rat pruriceptive processing.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.peptides.2019.170232. Epub 2019 Dec 13.	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 Miyahara Y, Funahashi H, Naono-Nakayama R, Haruta-Tsukamoto A, Nishimori T, Ishida Y	4. 巻 850
2. 論文標題 Role of serotonin and noradrenaline in the acute itch processing in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal Pharmacology	6. 最初と最後の頁 118-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2019.02.013. Epub 2019 Feb 12.	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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Haruta-Tsukamoto A, Funahashi H, Miyahara Y, Kogoh Y, Kanemaru-Kawazoe A, Nishimori T, Ishida Y
2. 発表標題 Kainate receptors contribute to acute itch processing in mice
3. 学会等名 第43回日本生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会合同年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruta-Tsukamoto A, Funahashi H, Miyahara Y, Kogoh Y, Kanemaru-Kawazoe A, Nishimori T, Ishida Y
2. 発表標題 AMPA and Kainate receptors contribute to acute or chronic pruritus processing in mice
3. 学会等名 第30回国際痒みシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruta-Tsukamoto A, Miyahara Y, Funahashi H, Nishimori T, Ishida Y
2. 発表標題 Effect of perampanel on chronic itch behavior induced by diphenylcyclopropanone in mice.
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学会年会・第42回日本生物学的精神医学会年会・第4回日本精神薬学会総会・学術集会 合同年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haruta-Tsukamoto A, Miyahara Y, Funahashi H, Ebihara K, Nishimori T, Ishida Y
2. 発表標題 Effect of perampanel on acute itch behavior induced by chloroquine, serotonin or histamine in mice.
3. 学会等名 Neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関