

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06602

研究課題名（和文）難治性掻痒に対する副作用の無い特異的治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of specific therapeutic agents for intractable pruritus without side effects

研究代表者

溝口 広一（Mizoguchi, Hirokazu）

東北医科薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：30360069

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：各種病態性掻痒やその掻痒を一部反映した実験動物モデル（乾皮症掻痒、接触皮膚炎掻痒、5-HT誘発掻痒、デオキシコール酸誘発掻痒）において、KOR作動薬のみならずMOR作動薬も、経皮投与によって強力な抗掻痒作用を発現することを発見した。また掻痒モデルによって、有効性を示すMOR作動薬が一部異なることが明らかとなり、その差異に各種MORスプライスバリエーションが関与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性病態性掻痒の治療薬は、現在KOR作動薬のナルフラフィンしか存在せず、新たな治療薬の開発が望まれている。本研究課題の成果によって、従来掻痒誘発に働くと考えられていたMOR作動薬も、経皮投与によって病態性掻痒に対し強力な抗掻痒作用を示すことが明らかとなり、難治性病態性掻痒に対する新規治療薬のターゲットが追加された。ターゲットとなりうるMORのスプライスバリエーションを解明することにより、副作用の無い難治性病態性掻痒治療薬の開発に繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This research found that not only KOR agonists but also MOR agonists exerted strong antipruritic effects when administered transdermally in various pathological pruritus experimental animal models (dry skin pruritus, contact dermatitis pruritus, 5-HT-induced pruritus, and deoxycholic acid-induced pruritus). There is discrepancy in the effectiveness of some MOR agonists against the pruritus models, and it is suggested that various MOR splice variants may be involved in these differences.

研究分野：疼痛・掻痒制御

キーワード：難治性掻痒 μ オピオイド受容体 末梢性作用

1. 研究開始当初の背景

掻痒は、皮膚や粘膜を掻破したいという欲求に持続的に支配される非常に不快な情動感覚である。堪え難い衝動に導かれた皮膚・粘膜の掻破により、この掻痒は一時的に緩和され不快感 は快感に転化されるが、掻破による皮膚・粘膜への刺激により、内因性起痒物質の遊離が促進し、二次的皮膚病変を誘導することにより、新たな掻痒が惹起される。この掻痒の悪循環は、itch-scratch cycle とよばれ、難治性掻痒形成の一因と考えられている。掻痒は、アトピー性皮膚炎や接触性皮膚炎などの炎症やアレルギー反応による病態に伴って発現する他、肝炎や腎透析時など内臓疾患に関連しても発現する。掻痒の治療には、通常ヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬が用いられるが、病態に付随した掻痒は、ヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬に抵抗性の難治性掻痒であることが多く、患者の QOL を著しく低下させることから臨床上問題となっている。近年腎透析時掻痒の特異的治療薬として オピオイド受容体 (KOR) 作動薬であるナルフラフィンが認可されたが、現在難治性掻痒の治療薬はこのナルフラフィンしか存在せず、より汎用性の高い強力な抗掻痒薬の開発が望まれている。

ナルフラフィンの抗掻痒作用は、皮下投与では中枢の KOR を介して、経皮投与では皮膚の KOR を介して発現することが明らかにされており、またアトピー性皮膚炎患者の表皮においては オピオイドシステムの機能低下が認められることから、中枢および皮膚において、KOR 刺激は掻痒を抑制する働きがあることが示唆されている。一方、脳内 μ オピオイド受容体 (MOR) の遮断により、薬物誘発性掻痒反応が抑制されることから、中枢の MOR 刺激は掻痒誘発に働くことが示唆されている。しかし最近研究代表者は、MOR 作動薬の経皮投与により抗掻痒作用が発現することを発見した。この現象は、掻痒に対する MOR の関与は、中枢と皮膚では異なる可能性を示しているが、中枢作用による固定観念からか、皮膚 MOR の生理機能特に掻痒に対する効果は、全く検討されていない。

2. 研究の目的

病態に付随した掻痒は、ヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬に抵抗性の難治性掻痒として臨床上問題となっており、現在その治療薬は、最近腎透析時掻痒の治療薬として認可された KOR 作動薬ナルフラフィンしか存在しない。ナルフラフィンに認められる様に、中枢 KOR 刺激は抗掻痒作用を発現する一方、中枢 MOR 刺激は掻痒反応を惹起することが報告されているが、研究代表者は最近、皮膚 MOR 刺激は抗掻痒作用を発現することを発見した。本研究では、難治性掻痒に対する皮膚 MOR 刺激による末梢性抗掻痒作用の発現機構を解明するとともに、末梢性 MOR 作動薬の経皮投与による難治性掻痒の特異的治療法を開発する。

マウスにおける病態性慢性掻痒の実験動物モデルとして、これまでにアトピー性皮膚炎モデルマウス、乾皮症掻痒モデルマウス、接触性皮膚炎モデルマウスなどが開発され、掻痒のメカニズム解明および抗掻痒薬の開発に汎用されているが、内臓疾患誘発性掻痒の実験動物モデルは未だ開発されていない。本研究課題は、これまで確立されていない腎障害誘発性掻痒の新規実験動物モデルを確立し、腎障害誘発性慢性掻痒に対する特異的治療薬の開発を試みる。

本研究課題では、難治性掻痒の治療に関わる MOR をそのスプライスバリエーション (遺伝子に複数の exon が存在する場合、転写後の mRNA のスプライス過程で生じる多型) の特定を含め検討する。マウス MOR には 30 種類以上のスプライスバリエーションが存在することが報告されており、MOR に作用する作動薬間の薬理作用の違いは、このスプライスバリエーションに対する感受性の違いに基づくことが示唆されているにもかかわらず、各スプライスバリエーションが特異的に関与する生理機能は未だ解明されていない。研究代表者は、これまでに MOR スプライスバリエーションの機能解析を行い、特定スプライスバリエーションに選択的な新規 MOR 作動薬を複数開発するとともに、特定スプライスバリエーションの特異的生理機能の一端をすでに解明している。本研究課題は、メチオジド基を導入した末梢 MOR 選択的作動薬を抗掻痒薬として転用するものであり、また経皮投与で局所に適用することにより、全身性の副作用を極力回避するものである。本研究課題で開発される新規抗掻痒薬は、経皮投与により、難治性掻痒に対する副作用のない強力な特異的治療薬になり得る。

3. 研究の方法

実験 1 病態性慢性掻痒モデルの確立

病態性慢性掻痒の実験動物モデルとして、アトピー性皮膚炎モデル、乾皮症掻痒モデル、薬剤性腎障害誘発性掻痒モデルを確立する。アトピー性皮膚炎モデル (Int. Immunopharmacol. 3: 1313-1324, 2003) および乾皮症掻痒モデル (Jpn. J. Pharmacol. 88: 285-292, 2002) は、既存の掻痒モデルを使用する。薬剤性腎障害誘発性掻痒モデルは、臨床で腎尿細管壊死とともに掻痒反応を誘発する化学療法剤 (oxaliplatin, cisplatin) 腎血流障害を誘発する cyclosporin と非ステロイド性抗炎症薬 (loxoprofen, diclofenac, ibuprofen) 腎尿細管機能異常を誘発する抗菌薬 (aminoglycoside 系、tetracycline 系、 β -lactam 系) を用い作製する。自発的かつ慢性的に掻痒行動が発現することを、24 時間持続的に観察することにより確認し、またその

搔痒行動の高頻度発現時間帯を検出する。

実験2 病態性慢性搔痒に対する MOR 作動薬の経皮抗搔痒作用

確立した各種病態性慢性搔痒モデルを用い、発現する搔痒に対する MOR 作動薬（モルヒネ、オキシコドン、メサドン、依存性の無い新規鎮痛薬 amidino-TAPA およびその誘導体）の経皮投与による抗搔痒作用を測定する。陽性対照薬としてナルフラフィンを用いる。抗搔痒作用が認められた MOR 作動薬に関しては、MOR 拮抗薬 -FNA、KOR 拮抗薬 nor-BNI、オピオイド受容体拮抗薬ナルトリンドールを経皮前処置し、その抗搔痒作用発現に関わるオピオイド受容体を特定する。

実験3 抗搔痒作用の発現に関わる MOR スプライスバリエーションの特定

RT-PCR 法により、皮膚に発現している MOR スプライスバリエーションを特定する。皮膚に発現していることが確認された MOR 各スプライスバリエーションに含まれている exon に選択的な siRNA を皮内投与し、exon 特異的に特定 MOR スプライスバリエーションの皮膚局所ノックダウンモデルを作製する。ノックダウンは、RT-PCR 法により各スプライスバリエーションの mRNA 発現量を測定することにより確認する。MOR 特定スプライスバリエーションの皮膚局所ノックダウンモデルを用い、病態性慢性搔痒に対する MOR 作動薬の経皮投与による抗搔痒作用を測定することにより、病態性慢性搔痒の治療に関与する MOR スプライスバリエーションを特定する。

実験4 MOR 作動薬の末梢性誘導体による経皮抗搔痒作用

病態性慢性搔痒に対して経皮投与により抗搔痒作用を示した MOR 作動薬に、メチオジド基を導入し、中枢移行性のない末梢性誘導体を合成する。合成した末梢性誘導体の経皮投与により、病態性慢性搔痒に対する抗搔痒作用が認められるか検討する。抗搔痒作用が認められた末梢性誘導体に関しては、各種オピオイド受容体拮抗薬を用い、その経皮投与による抗搔痒作用が末梢 MOR 受容体を介して発現していることを確認する。

4. 研究成果

実験1 病態性慢性搔痒モデルの確立

病態性慢性搔痒の実験動物モデルとして、アトピー性皮膚炎モデル、乾皮症搔痒モデル、薬剤性腎障害誘発性搔痒モデルの確立を試みた。当初計画していたアトピー性皮膚炎モデルは、研究施設の規約変更により実施不可能となったため、アトピー性皮膚炎に伴う搔痒を部分的に反映していると考えられている、5-HT 皮内投与誘発搔痒 (Acta Derm. Venereol. 81: 250-254, 2001) をアトピー性皮膚炎モデルの代わりに確立した (アトピー性皮膚炎においては、患部表皮内の 5-HT 含量ならびに 5-HT₂ 受容体産生量が上昇すること、ならびに 5-HT 皮内投与により誘発される搔痒行動は H₁ 受容体拮抗薬によっては抑制されないことが報告されている)。乾皮症搔痒モデルは、当初計画の通り、エーテルとアセトンを用いて 1 日 2 回 11 日間慢性塗布することにより確立した。薬剤性腎障害誘発性搔痒モデルは、当初計画の各種薬物を用いて確立を試みたが、確立することは出来なかった。そこで代替病態搔痒モデルとして、四塩化炭素を用いた薬剤性肝障害搔痒モデル (Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 304: G449-G468, 2013) の確立を試みたが、四塩化炭素は毒性が強く、搔痒行動を測定可能な病態モデルの確立は適わなかった。そこで次善の代替病態搔痒モデルとして、肝炎時搔痒の原因とされている、デオキシコロール酸皮内投与誘発搔痒モデル (Br. J. Pharmacol. 126: 197-204, 1999) の確立を試み、無事その確立に成功した。また接触皮膚炎搔痒モデルとして、ジフェニルシクロプロペノン慢性塗布誘発搔痒 (Nature Rev. Neurol. 5: 640-641, 2009) の確立を試み、ジフェニルシクロプロペノンを週 2 回 2 週間 (合計 4 回) 塗布することにより、接触皮膚炎搔痒モデルを確立した。

実験2 病態性慢性搔痒に対する MOR 作動薬の経皮抗搔痒作用

アトピー性皮膚炎に伴う搔痒を部分的に反映していると考えられている、5-HT 皮内投与誘発搔痒行動は、ナルフラフィンおよびその末梢性誘導体ナルフラフィンメチオジドの経皮投与 (塗布) により抑制され、その抑制作用は nor-BNI の皮下投与では抑制されず経皮投与 (塗布) においてのみ抑制されたことから、皮膚 KOR を介して発現することが明らかとなった。5-HT 皮内投与誘発搔痒行動は、モルヒネ、オキシコドンおよび amidino-TAPA の経皮投与 (塗布) によっても抑制され、その抗搔痒作用は MOR 拮抗薬の経皮投与 (塗布) により抑制されたことから、皮膚 MOR を介して発現することが明らかとなった。また amidino-TAPA の経皮投与 (塗布) 誘発抗搔痒作用は、KOR 拮抗薬の経皮投与 (塗布) によっても抑制されたことから、amidino-TAPA は MOR と KOR の両方を介して抗搔痒作用を発現することが明らかとなった。更に 5-HT 皮内投与誘発搔痒は、ナルフラフィンおよびモルヒネ、オキシコドン、フェンタニルの皮内投与により用量依存的に抑制された。このナルフラフィンの抗搔痒作用は、nor-BNI の皮内前投与により抑制され、またモルヒネ、オキシコドン、フェンタニルの抗搔痒作用は、-FNA の皮内前投与により抑制された。以上の結果から、5-HT 皮内投与誘発搔痒に対して、KOR 作動薬と MOR 作動

薬の皮内投与は、それぞれ KOR と MOR を選択的に介して抗搔痒作用を示すことが明らかとなった。

乾皮症搔痒モデルにおいて塗布後発現した搔痒行動は、ナルフラフィンの皮下投与により有意に抑制された。また、ナルフラフィンメチオジドの皮下投与によっても有意に抑制されたが、その抑制効果はナルフラフィンよりも弱かった。以上の結果から、本乾皮症搔痒に対するナルフラフィンの抗搔痒作用には、中枢と末梢の両方の KOR が関与することが明らかとなった。現在、本乾皮症搔痒に対する、モルヒネを含む各種 MOR 作動薬の皮下投与・皮内投与による抗搔痒作用を検討中である。また、乾皮症搔痒の形成における内因性オピオイドペプチドの関与を検討した。Prodynorphin 欠損マウスにおいては乾皮症搔痒の形成は悪化し、MOR 欠損マウスにおいては逆に抑制されたことから、乾皮症搔痒の形成に対して内因性 オピオイドシステムは前進的には抑制的に、逆に内因性 μ オピオイドシステムは全身的には促進的に働いていることが明らかとなった。

肝障害誘発性搔痒モデルであるデオキシコール酸皮内投与誘発搔痒は、ナルフラフィンの皮内投与により用量依存的に抑制され、その抗搔痒作用は nor-BNI の皮内前投与により抑制された。一方、デオキシコール酸皮内投与誘発搔痒は、オキシコドンとフェンタニルの皮内投与によって用量依存的に抑制されたが、モルヒネの皮内投与によっては抑制されなかった。またデオキシコール酸皮内投与誘発搔痒に対するオキシコドンとフェンタニルの抗搔痒作用は、-FNA の皮内前投与によっては抑制されなかった。以上の結果から、デオキシコール酸皮内投与誘発搔痒に対して、KOR 作動薬の皮内投与は、KOR を選択的に介して抗搔痒作用を示すことが明らかとなった。一方、デオキシコール酸皮内投与誘発搔痒に対する MOR 作動薬皮内投与の効果は、オキシコドンおよびフェンタニルとモルヒネでは違いが認められ、かつオキシコドンとフェンタニルの抗搔痒作用は、-FNA の皮内前投与によっては抑制されなかった事から、デオキシコール酸皮内投与誘発搔痒に対するオキシコドンとフェンタニルの抗搔痒作用は、モルヒネおよび -FNA に非感受性の皮膚 μ 受容体スプライスバリエントを介して発現している可能性が示唆された。

接触性皮膚炎搔痒モデルであるジフェニルシクロプロペノン慢性塗布誘発搔痒は、morphine の皮内投与により用量依存的に抑制されたことから、接触性皮膚炎搔痒に対して皮膚 MOR 刺激は抗搔痒作用を示す可能性が示唆された。現在、ジフェニルシクロプロペノン慢性塗布誘発搔痒に対する、オキシコドンならびにフェンタニルの皮内投与による抗搔痒作用を検討中である。

実験 3 抗搔痒作用の発現に関わる MOR スプライスバリエントの特定

マウス頸背部皮膚における MOR および KOR の発現を確認した。各種搔痒モデルマウスの搔痒部にあたる頸背部の皮膚を採取し、皮下組織を除去した後、皮膚組織から抽出した mRNA を用いて RT-PCR 法により、exon-1 含有 MOR スプライスバリエントの発現を確認した。現在、皮膚組織から抽出した mRNA を用いて、exon 特異的各 MOR スプライスバリエントの発現を検討するとともに、発現が認められた exon-1 含有 MOR スプライスバリエントに関して、各種病態的搔痒発現時におけるその発現量の変化を検討中である。一方、同様の方法で皮膚における KOR の発現を検討したが、皮膚組織においては KOR の mRNA は検出されなかった。この結果から、MOR とは異なり、KOR は皮膚では発現せず、ナルフラフィンは脊髄後根神経節で発現し、軸索輸送で一次知覚神経末梢側終末（皮膚内）に輸送されてきた KOR に作用することが明らかになった。

実験 4 MOR 作動薬の末梢性誘導体による経皮抗搔痒作用

モルヒネとオキシコドンのメチオジド導入誘導体を、共同研究者に依頼して現在作成中である。入手でき次第、その抗搔痒作用に関して各種搔痒モデルを用いて検討予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Scuteri Damiana, Rombola Laura, Crudo Michele, Watanabe Chizuko, Mizoguchi Hirokazu, Sakurada Shinobu, Hamamura Kengo, Sakurada Tsukasa, Morrone Luigi Antonio, Tonin Paolo, Bagetta Giacinto, Corasaniti Maria Tiziana	4. 巻 14
2. 論文標題 Translational Value of the Transdermal Administration of Bergamot Essential Oil and of Its Fractions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1006 ~ 1006
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics14051006	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 該当する

1. 著者名 Keita Iio, Noriki Kutsumura, Yasuyuki Nagumo, Tsuyoshi Saitoh, Akihisa Tokuda, Kao Hashimoto, Naoshi Yamamoto, Ryoji Kise, Asuka Inoue, Hirokazu Mizoguchi, Hiroshi Nagase	4. 巻 56
2. 論文標題 Synthesis of unnatural morphinan compounds to induce itch-like behaviors in mice: Towards the development of MRGPRX2 selective ligands	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.128485	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 飯尾啓太、沓村憲樹、南雲康行、斉藤毅、徳田明久、橋本佳応、山本直司、木瀬亮次、井上飛鳥、溝口広一、長瀬博
2. 発表標題 搔痒誘起作用を有する非天然型モルヒナン誘導体の創製
3. 学会等名 新学術領域研究「化学コミュニケーションのフロンティア」第8回公開シンポジウム
4. 発表年 2021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
研究 分 担 者	渡辺 千寿子 (Watanabe Chizuko) (90296020)	東北医科薬科大学・薬学部・准教授 (31305)	

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