

審査の結果の要旨

氏名 土田 洋

ニューロキニンはカプサイシン感受性の知覚神経C線維から主に放出される神経ペプチドである。主なニューロキニンとして、サブスタンスP、ニューロキニンA、ニューロキニンBがある。共通している点は、Phe/Gly/Leu/Metを含むモチーフを持つ約10アミノ酸からなるペプチドで、受容体には三つのサブタイプ(NK₁、NK₂、NK₃)がある。サブスタンスPはNK₁受容体に対して最も強い親和性を示し、ニューロキニンAはNK₂受容体、NKBはNK₃受容体に対して最も強い親和性を示すが、各リガンドは他の受容体サブタイプに対してもフルアゴニストとして作用する。

知覚神経C線維は求心性に情報を伝達するが、いわゆる軸索反射と呼ばれる反応により、末梢組織にも神経伝達物質を放出し、全身性に様々な作用を呼び起こす。これまでのところ、知覚神経C線維は炎症に起因するヒスタミンやブラジキニンなどの化学伝達物質によっても活性化され、末梢組織に放出されたニューロキニンにより炎症が増悪する神経原性炎症が様々な病態に関わっていることが報告されている。

ニューロキニン受容体は全身性に発現して様々な生理作用に関わっているが、特に呼吸器では上皮細胞・血管内皮細胞・気道平滑筋・分泌腺・炎症細胞などに広く分布しており、気道収縮・粘液分泌・咳など様々な生理作用に関与することが報告されている。これらの作用は、特定の1つの受容体サブタイプだけではなく、3種類の様々な受容体サブタイプの関与が考えられており、3種類の受容体サブタイプ全てを阻害することで呼吸器病態を強く抑制できる可能性がある。

これまでに報告されている動物および臨床でのニューロキニン受容体拮抗剤の作用やニューロキニン受容体の発現情報から、ニューロキニン受容体が呼吸器疾患に深く関わっている可能性が示唆されており、また、リガンドと受容体が必ずしも1対1の関係にない3種類の受容体サブタイプが存在することから、土田は3種類全ての受容体を阻害するトリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤の開発を目指した。具体的には、新規トリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤CS-003の薬理学的プロファイルを解析し、モルモット各種呼吸器疾患モデルにおけるCS-003の薬効を評価することによりニューロキニン受容体の機能を明らかにすることを目的とした。

CS-003はモルフォリン骨格にスピロ環およびトリメトキシベンゾイル基を配した化学構造をした分子量710.11の低分子化合物で、ヒトNK₁、NK₂、NK₃受容体に対してそれぞれ2.3、0.54、0.74 nMのK_i値を示し、モルモットニューロキニン受容体に対してもヒトと同様に高い親和性を示した。これまでに報告されているニューロキニン受容体サブタイプ選択的拮抗剤FK888、SR 48968、SB 223956のK_i値は、ヒトNK₁、NK₂、NK₃に対してそれぞれ0.15、0.32、5.3 nMであり、各化合物の選択性が確認された。また土田は、CS-003はヒトと比較してマウスおよびラットNK受容体に対しては結合親和性が約1000倍低いことを明らかにした。

CS-003のニューロキニン受容体以外の受容体に対する結合親和性は、イオンチャネルや

トランスポーターを含む 100 以上の分子で調べたが、10 μ M でリガンド-受容体結合を抑制率 50%以上で阻害したのは、ラット L type calcium channel およびラット sodium channel site 2 のみであったことから、CS-003 は特異的な新規トリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤であることを強く示唆した。

土田は、CS-003 の細胞に対する活性をヒトニューロキニン受容体発現細胞を用いて評価し、CS-003 は単剤で全てのニューロキニン受容体に対して競合的拮抗作用を示すことを明らかにした。CS-003 の *in vivo*での活性については、NK₁受容体拮抗活性はサブスタンス P で誘発した気道血管透過性の亢進、NK₂受容体拮抗活性はニューロキニン A で誘発した気道収縮、NK₃受容体拮抗活性はニューロキニン B で誘発した気道収縮を指標に評価した。その結果、CS-003 静脈内投与により、各気道反応は用量依存的に抑制され、NK₁、NK₂、NK₃受容体拮抗活性 ID₅₀値はそれぞれ 0.13、0.040、0.063 mg/kg であること、また、CS-003 経口投与でも用量依存的な抑制作用を認め、ID₅₀値はそれぞれ 3.6、1.3、0.89 mg/kgであることを示した。

次に土田は、CS-003 を用いて、受容体サブタイプ選択的拮抗剤に対するトリプル型受容体拮抗剤の優位性についてモルモットを用いて検討した。知覚神経 C 線維を刺激することにより内因性のニューロキニンを放出させるカプサイシンはモルモットに暴露することで気道内圧の上昇つまり気道収縮を誘発できる。このカプサイシンにより誘発された気道収縮は、十分な用量の NK₂受容体選択的拮抗剤 SR 48968 により有意に抑制されたが、NK₁受容体選択的拮抗剤 FK888 および NK₃受容体選択的拮抗剤 SB 223956 では部分的にしか抑制しなかった。一方、CS-003 静脈内投与はこの気道収縮を用量依存的に抑制して、ID₅₀値は 0.27 mg/kg。CS-003 は最高用量の 1.0 mg/kg では 85.0%の抑制作用を示し、十分な用量を投与した NK₁、NK₂、NK₃受容体のそれぞれの選択的拮抗剤よりも高い抑制率を示した。これらの結果から土田は、カプサイシン誘発気道収縮は全てのニューロキニン受容体を阻害することで、サブタイプ選択ニューロキニン受容体拮抗剤よりも強く抑制されることを明らかにした。

次に土田は、トリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤 CS-003 により、3 種類全てのニューロキニン受容体を阻害することによる薬効を各種呼吸器疾患モデルで評価した。

アレルギー性鼻炎では、肥満細胞や好酸球を主体とした炎症が認められ、これら炎症細胞から放出されたヒスタミンやロイコトリエンなどの化学伝達物質は血管などに作用することにより、鼻閉症状を誘発することが報告されている。鼻閉は、主に肥満細胞の脱顆粒を介したヒスタミンによる即時反応、および主に好酸球などの新たな炎症細胞浸潤による遅発反応が報告されているが、NK₁受容体選択的拮抗剤は即時反応を部分的に抑制し、NK₂受容体選択的拮抗剤は遅発反応のみをほぼ完全に抑制することが既に報告されている。土田は、抗原を用いてモルモットアレルギー性鼻炎モデルを作製し、ニューロキニン受容体サブタイプを全て阻害することによる鼻閉症状の即時反応および遅発反応に対する抑制効果をステロイドであるデキサメタゾンと比較した。その結果、経口投与した CS-003 はどちらの反応も用量依存的に抑制し、広範な抗炎症作用を示すステロイドと同様に強い薬効を示した。この結果により土田は、NK₁、NK₂、NK₃受容体全てを阻害することで、鼻閉に対して対照薬に匹敵する強い薬効が現れることを示し、特に即時反応においては NK₁受容体以外のニューロキニン受容体の関与を示した。

アレルギー性の気管支喘息ではアレルギー性鼻炎と同じように好酸球主体の炎症が認められている。最も重要な症状である喘息発作の原因、気道過敏性の亢進に関してはメカニズムが完全にはわかっていないが、慢性的な炎症による気道リモデリングなどの関与が報告されており、抗炎症薬としてステロイドやロイコトリエン受容体拮抗薬が処方されている。土田は、CS-003の急性のおよび慢性的喘息病態における作用を検討することにより、ニューロキニン受容体サブタイプを全て阻害することで発現する薬効を、ロイコトリエン受容体拮抗剤 montelukast と比較した。その結果、急性的病態では CS-003 および montelukast は気道過敏性の亢進をともに有意に抑制したのに対し、慢性的病態では CS-003 のみが有意な抑制を示した。これらの結果から土田は、臨床病態をより反映していると考えられる慢性的な喘息病態モデルではロイコトリエンではなくニューロキニンが強く関与し、トリプル型ニューロキニン拮抗剤が強い薬効を示すことを明らかにした。

呼吸器科を訪れる患者が最も多く訴える症状はセキ（咳）であり、患者の QOL を著しく低下させる。これまでにサブタイプ選択的ニューロキニン受容体拮抗剤のセキ抑制作用が報告されているが、全てのニューロキニン受容体を阻害した時の薬効は報告されていないことから、土田はトリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤の鎮咳作用をサブタイプ選択的ニューロキニン受容体拮抗剤と比較した。その結果、CS-003 は用量依存的にセキを抑制し、1.0 mg/kg では 77.0%抑制したことから、全ての NK 受容体を抑えることにより、選択的 NK 受容体拮抗剤よりも強い薬効を示すことが明らかとなった。

以上、本研究結果から土田は、新規トリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤 CS-003 が単剤で全てのニューロキニン受容体を *in vitro* および *in vivo* で強く阻害し、モルモット呼吸器疾患モデルでも強い薬効が発現することを示した。またこのことから、複数のニューロキニン受容体サブタイプが病態形成に関与していることを明らかにした。ニューロキニン受容体は全身性に発現しており、様々な生理現象に関わっていることが報告されている。中枢に関わる疾患はもちろん、中枢以外でも皮膚に発現するニューロキニン受容体が関与する痒み症状や、腸管に発現するニューロキニン受容体が関与する過敏性大腸炎が特に注目されており、トリプル型ニューロキニン受容体拮抗剤がこれらの疾患に有効であることを示した本研究は、博士（薬学）に充分値するものと判断した。