

氏名	はるな たかよ 春名 貴 予
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	薬博乙 第36号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位授与の年月日	平成30年3月23日
学位論文題目	II型カンナビノイド（CB ₂ ）受容体選択的作動薬の新規ア トピー性皮膚炎治療薬としての可能性に関する薬理学的 研究
論文審査委員	（主査）荻田 喜代一 （副査）河野 武幸 （副査）倉本 展行 （副査）吉岡 靖啓

博士論文要旨

論文題目 : II型カンナビノイド (CB2) 受容体選択的作動薬の新規アトピー性皮膚炎治療薬としての可能性に関する薬理学的研究

申請者

春名 貴予



研究分野

薬理系薬学

紹介教授

奈邊 健 教授

アトピー性皮膚炎は、「増悪・寛解を繰り返す、そう痒のある湿疹を主病変とする疾患であり、患者の多くはアトピー素因（気管支喘息、アレルギー性鼻炎・結膜炎、アトピー性皮膚炎などの家族歴・既往歴があるか、またはIgE抗体を産生しやすい素因）を持つ」と定義されている。強い痒みによる不眠や集中力の低下、また皮疹による外見の悩みなどから、日常生活あるいは社会的活動に支障をきたし、患者の生活の質（Quality of Life: QOL）が著しく低下する疾患である。アトピー性皮膚炎では、強い痒みが搔破行動を引き起こし、皮膚を損傷することにより炎症反応が増悪し、さらに強い痒みが生じるといった悪循環（itch-scratch-cycle）が生じて疾患を難治化させている。アトピー性皮膚炎の患者の数は年々増える傾向にあり、成人重症例も増大しているが、アトピー性皮膚炎は遺伝要因（皮膚のバリア機能異常や免疫応答異常）に加えて環境要因などが関与する多因子疾患であると考えられており、根治は難しい。現在の一般的な治療としてステロイド外用薬およびタクロリムス軟膏が使用されているが、副作用や使用上の制限などから、より安全で有効性の高い薬物の開発が望まれている。また、補助的にアトピー性皮膚炎の痒みに対して抗ヒスタミン薬が用いられているが、その効果は不十分であることから、痒みを標的にする薬物が開発されれば、さらに薬物療法幅が広がると考えられる。

カンナビノイドは、中枢神経系や免疫系などにおいて幅広い薬理作用を有しており、カンナビノイド系を標的とした薬剤は様々な病態に対して治療効果を発揮することが期待されている。カンナビノイド受容体には主にCB₁受容体と

CB₂ 受容体が存在する。CB₁ 受容体は中枢神経系に多く発現しており、脳の高次機能に関与している。一方、CB₂ 受容体は免疫組織や末梢神経に発現しており、免疫機能や痛み・痒みの調節に関与することが示唆されている。CB₂ 受容体選択的作動薬は抗炎症作用および抗そう痒作用を示すことが期待され、向精神作用、鎮静作用や依存性といった CB₁ 受容体に依存する中枢性副作用の懸念が小さいアトピー性皮膚炎治療薬となる可能性がある。

本研究では、アトピー性皮膚炎治療薬を評価・開発する上で重要となる病態モデルマウスの詳細な解析および塩野義製薬により見出された新規 CB₂ 受容体選択的作動薬である S-777469 の抗炎症作用および抗そう痒作用について検討した。

第 1 章 NC/Nga マウスを用いたダニ抗原誘発皮膚炎モデルのアトピー性皮膚炎治療薬評価における有用性

アトピー性皮膚炎は非常に複雑な病態（免疫異常，バリア機能異常，痒み）を呈する疾患であり，新規治療薬の創製のためには，その病態の特徴をよく反映した動物モデルが必要となる．そこで，NC/Nga マウスのダニ抗原誘発皮膚炎モデルについて，アトピー性皮膚炎の病態モデルとしての有用性を検討した．本モデルは，週 2 回 3 週間，背部皮膚のバリア破壊およびダニ抗原軟膏塗布によって，慢性化した皮膚炎を発症する．そして，その臨床所見，病理組織学的特徴および免疫学的特徴がヒトのアトピー性皮膚炎と類似していることが明らかになっている．NC/Nga 以外の系統のマウス（ICR，C57BL/6 および BALB/c）でも同様の処置により皮膚炎の惹起を試みたが，明らかな皮膚炎は発症しなかった．NC/Nga マウスのダニ抗原誘発皮膚炎モデルにおいて，抗原誘発以降，搔破行動と皮膚炎スコアのタイムコースを確認したところ，搔破行動の増加に伴って皮膚炎スコアの上昇が認められた．また，慢性化した皮膚炎は，抗原誘発を止めても 10 日間以上維持され，血中 IgE 値についても高い状態が維持された．しかしながら，爪を切除することによって搔破の影響を減らすと，皮膚炎の顕著な改善と血中 IgE 値の低下が認められた．さらに，皮内の PGP9.5 陽性神経線維の分布を免疫組織化学染色によって調べると，正常マウスと比較して，明らかな表皮内への神経線維の侵入・増生が認められた．これらのことから，本モデルの皮膚炎の慢性化およびその維持に，搔破行動が重要な役割を果たしており，itch-scratch-cycle の現象が生じていることが示唆された．以上より，本モデルはヒトのアトピー性皮膚炎と類似した特徴を多く有しており，アトピー性皮膚炎の病態解明や治療薬の開発に有用であると考えられる．

第2章 CB₂受容体選択的作動薬である S-777469 のマウス皮膚炎症に及ぼす影響

第2章では、S-777469の抗炎症効果について、マウスのDNFB誘発耳介炎症モデルおよび第1章でアトピー性皮膚炎モデル動物としての有用性を示したNC/Ngaマウスのダニ抗原誘発皮膚炎モデルを用いて検討した。S-777469はDNFB誘発耳介炎症モデルの耳介の肥厚をステロイド薬であるプレドニゾロンと同様に、有意に抑制した。このことから、S-777469は抗炎症薬として皮膚炎症に明らかな抑制効果を示すことが明らかとなった。またS-777469は、ダニ抗原誘発皮膚炎モデルにおいて治療効果を示し、表皮の肥厚や炎症性細胞（マスト細胞や好酸球）浸潤といった皮膚病理組織学的変化を改善した。CB₂受容体の主要な内因性リガンドである2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)が、マウスにおいて炎症を惹起することや炎症部位で増加していることが報告されていることから、2-AGの作用に対するS-777469の影響を調べた。*In vitro*の細胞遊走実験により、S-777469は2-AGによって誘導される好酸球様EoL-1および単球様HL-60細胞の遊走を濃度依存的に阻害することが明らかになった。また、ダニ抗原誘発皮膚炎モデルの皮膚病変部の2-AG量をLC-MS/MSにより測定したところ、顕著な増加が認められた。これらの結果から、S-777469は、2-AGがCB₂受容体を介して誘導する炎症反応（炎症性細胞浸潤など）を阻害することによって、抗炎症作用を発揮していると考えられる。以上より、S-777469は炎症性皮膚疾患の治療薬となる可能性が示唆された。

第3章 CB₂受容体選択的作動薬である S-777469 のマウスおよびラットの搔破行動に及ぼす影響

第3章では、S-777469の抗そう痒作用について、マウスおよびラットを用いて各種起痒物質によって誘発される引っ掻き行動を指標に評価した。S-777469はコンパウンド48/80で惹起した搔破行動を抑制し、この抑制作用がCB₂受容体拮抗薬であるSR144528によって阻害されたことから、CB₂受容体を介した作用であると考えられた。続いて、ヒスタミン、サブスタンスPおよびセロトニン誘発の搔破行動に及ぼす影響を調べたところ、S-777469はいずれの搔破行動も有意に抑制した。一方、抗ヒスタミン薬であるフェキソフェナジンは、ヒスタミン誘発の搔破行動のみを有意に抑制した。S-777469が起痒物質の種類に関係なく搔破行動を抑制する機序について検討したところ、S-777469がヒスタミンによって誘発される神経発火を抑制したことから、S-777469はCB₂受容体を介して痒みのシグナル伝達を阻害することによって抗そう痒作用を発揮すると考えられた。さらに、慢性的な痒みの治療を考えた場合、長期的に薬剤を摂取する必要があるが、CB₂受容体作動薬を長期投与すると耐性が生じる可能性

が報告されているため、S-777469 を反復投与し、抗そう痒効果が維持されるかどうかを検討した。その結果、単回投与の場合と同様に有意な抑制効果が認められたことから、S-777469 に関して耐性は生じず長期投与が可能であることが示唆された。

アトピー性皮膚炎の皮膚では、ヒスタミン以外にも様々な痒みのメディエーターが存在し、それらが末梢の感覚神経に作用し、複雑な痒みを引き起こしている。S-777469 は CB_2 受容体を発現した末梢神経の興奮を抑制することによって、様々な起痒物質に対する反応を抑制すると考えられ、S-777469 は抗ヒスタミン薬に対して抵抗性を示す痒みに対しても有効である可能性がある。

以上、本研究において、アトピー性皮膚炎の病態モデルとして NC/Nga マウスのダニ抗原誘発皮膚炎モデルの有用性を明らかにした。本モデルは、アトピー性皮膚炎の病態解明および治療薬の開発に大きく貢献すると考えられる。また、新規 CB_2 受容体選択的作動薬である S-777469 は、抗炎症効果に加えて抗そう痒効果も示すことから、新規の作用機序を有するアトピー性皮膚炎治療薬としての可能性が期待される。