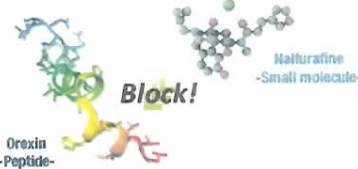


# ナルフラフィンの新規受容体に対する親和性

(筑波大・WPI-IHS) ○齊藤毅、山本直司、中嶋龍、入鹿山容子、小川靖裕、富永拓、石川有紀子、柳沢正史、長瀬博\*

## Abstract



**Nalfurafine** is a selective  $\kappa$ -opioid receptor agonist and has a potent antipruritic effect on various types of pruritus through central  $\kappa$ -opioid receptor activation. Moreover, clinical studies have demonstrated that nalfurafine possesses efficacy and safety in hemodialysis patients with uremic pruritus. In the course of the design and synthesis of orexin receptor ligands, we tried to estimate morphinan derivatives to obtain orexin antagonists. Surprisingly, we found that **nalfurafine** showed extremely selective orexin 1 receptor antagonist activity against orexin induced calcium mobilization ( $IC_{50}=0.8 \mu\text{M}$ ) and highly binding affinity ( $K_i=1.0 \mu\text{M}$ ). Moreover, the results from intraperitoneal (IP) injection of **nalfurafine** into WT mouse in sleep period indicated the significant inhibition of  $\kappa$ -opioid receptor induced increase of locomotor activity, while U-50488H, a  $\kappa$ -opioid receptor agonist, exhibited increase of locomotor activity. The increased motor activity of U-50488H was blocked by orexin 1 antagonist, SB-418024. These results were supported that the deficit of motor activity of **nalfurafine** in the sleep period was derived from orexin receptor antagonist activity.

### オピオイド受容体とオピオイド

7個膜貫通型受容体 (GPCR) であり、3つのタイプが存在する ( $\mu$ (MOR),  $\delta$ (DOR),  $\kappa$ (KOR)). G $\beta$ /G $\gamma$ と共役しており、オピオイド受容体活性化により、神経伝達物質の遊離や神経細胞の興奮性が低下するために神経鎮痛の効果が期待される。

**オピオイド**  
モルヒネなどオピオイド受容体作動薬は強力な鎮痛性を有することから、術後疼痛や慢性疼痛など強い痛み治療薬として広く用いられているが、これらの鎮痛薬は薬物依存性、呼吸抑制、便秘作用等の副作用が問題とされており、副作用の少ない鎮痛薬の開発が望まれている。

MOR作動薬: 鎮痛薬、鎮痙薬、鎮痙薬  
MOR拮抗薬: 急性薬物中毒治療薬、薬物依存解除薬  
KOR作動薬: 鎮痛薬、止痒薬  
DOR作動薬: 鎮痛薬、抗うつ薬

受容体タイプ	$\mu$ -Opioid (MOR)	$\delta$ -Opioid (DOR)	$\kappa$ -Opioid (KOR)
鎮痛作用	+++	++	++
鎮痙作用	+++	++	++
呼吸抑制	+++	++	++
便秘作用	+++	++	++
依存性	+++	++	++
抗うつ作用	-	-	+

### オレキシン受容体とオレキシン

7個膜貫通型受容体 (GPCR) であり、2つのタイプが存在する (OX1R, OX2R)。Gq/G12と共役しており、オレキシン受容体活性化により、神経伝達物質の遊離や神経細胞の興奮性が促進するために神経細胞の活動が誘発される。

**オレキシン**  
オレキシンは、行動量の亢進や体温上昇、心拍数増加などを引き起こし、主に覚醒レベルを上げる作用を示す。OX1R拮抗薬を用いた薬理実験では、OX1Rを阻害することにより、コカインやニコチン、モルヒネといった薬物の過剰化や依存が阻害されることが報告されており、OX1Rと依存との密な関係が注目されている。

OX1R拮抗薬: 抗不安薬、抗うつ薬  
OX2R拮抗薬: 睡眠導入薬 (DORAを含む)  
OX2R作動薬: ナルコレプシー治療薬

受容体タイプ	OX1R	OX2R
覚醒作用	+++	++
体温上昇	+++	++
心拍数増加	+++	++
依存性	+++	++
抗不安作用	-	+
睡眠導入作用	-	+

### ナルフラフィンとOX1R拮抗作用の発見

**ナルフラフィン**  
商品名: レミッチカプセル  
適応: 過労性頭痛の予防

- 東レ株式会社が開発された世界で初めて上市されたKOR選択的作動薬。
- マウス痛覚ライシグ試験においてED<sub>50</sub>値3.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と強い $\kappa$ 受容体由来の鎮痛作用を有する。(モルヒネの約183倍)
- 急性疼痛発現したKOR作動薬の有する幻覚、幻聴に代表される悪影響作用などの重要な副作用の分類に成功した唯一の薬物。
- ナルフラフィンが他のKOR作動薬で報告されたような副作用を分類した明確な順序は未だ不明である。

### ダイノルフィンとオレキシンの関連性

**オレキシン神経の投射先**  
オレキシン神経は視床下部外側野(LHA)に存在し、投射先は脳の広範におよぶ。特に、中脳橋核(LDT)、背橋核(LC)にOX1Rが選択的に発現している。また、腹側被蓋野(VTA)や線粒核(DR)ではOX1RとOX2Rが共に発現している。

**ダイノルフィンとオレキシンの関連**  
最近、Mushchampsは、オレキシン神経が興奮性ペプチドであるオレキシンと抑制性ペプチドであるダイノルフィンを用いたvesicleで放出していることを報告しており、VTA-ドーパミン神経においてOX1R拮抗薬がコカイン依存性を減弱させることを明らかにしている。

### オレキシン受容体に対する薬物評価系

Chemicals → Ferro-2 → FDS5 Ca<sup>2+</sup> assay  
Ludiferin → ARVO X5 Luciferase assay

Cell lines: CHO stable cells (OX1R, OX2R) (hTRF-Luciferase gene)  
Screening concentration: Chemical final conc. 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-9</sup> M; Oxiagon A (agonist) 100 nM

薬物	OX1R IC <sub>50</sub> (nM)	OX2R IC <sub>50</sub> (nM)
nalfurafine	0.8	ND
3-Methyl nalfurafine	1.2	ND
Nor-BNI	ND	ND
U-50488H	ND	ND
SB-408124	22	1.6

### 本研究における目的と仮説

◆ KOR作動薬の中でも、ナルフラフィンのみに見られるKOR作動/OX1R拮抗活性とKOR作動薬特有の副作用の関係性の解明  
◆ in vivoレベルでのオレキシン/ダイノルフィン相互作用機構の解明

**【仮説】**  
U-50488Hの低用量投与において、モチベーション依存的なマウスの自発運動量の亢進が報告されているが、ナルフラフィンではそのような報告はない。この相違点がOX1R拮抗依存的な作用であると仮定し、行動薬理実験を構築した。

### 実験プロトコル

薬物投与による自発運動量の測定 (WTマウス)

U-50488H vs Saline  
ナルフラフィン vs Saline

U-50488H vs Saline + SB408124  
ナルフラフィン vs Saline + nor-BNI

U-50488Hを低用量投与するとモチベーション依存的なマウスの自発運動量の亢進をOX1R拮抗薬が抑制する。=WT/ナルフラフィンと同じ効果

### 薬物投与による自発運動量の測定 (OX1R<sup>-/-</sup>マウス)

U-50488H vs Saline  
ナルフラフィン vs Saline

ナルフラフィン vs Saline + nor-BNI  
ナルフラフィン vs Saline + SB408124

OX1R<sup>-/-</sup>マウスでは、オレキシン/ダイノルフィン系が構築されており、ダイノルフィン過剰状態になっている。=WT/U-50488H単独投与と同じ効果

### Conclusion

- ◆ ナルフラフィンおよび3位メチル体にはKOR作動活性のみならずOX1R拮抗活性があることを見出した。(市販の薬物として初めてOX1R拮抗作用を確認した)
- ◆ ナルフラフィンとU-50488HはWTマウスにおいて異なる作用を示すことを明らかにした。
- ◆ 非活動期におけるU-50488H投与とマウスの自発運動量の亢進をOX1R拮抗薬が抑制することを見出した。(=ナルフラフィンの特異的な作用がOX1R拮抗作用からくることを示した)
- ◆ OX1R<sup>-/-</sup>マウスにおいて、U-50488Hとナルフラフィンでは同様の作用を示すことがわかった。
- ◆ OX1R<sup>-/-</sup>マウスではオレキシン系が構築されており、WT/OX1R拮抗薬とは異なるフェノタイプであることを明らかにした。

### In future

- ◆ OX1R拮抗作用とKOR拮抗作用の活性バランスが行動に及ぼす影響の解明
- ◆ OX1R拮抗活性が脳内や脳電位に与える影響を調査し、鎮痛性や依存形成のメカニズムとOX1Rの拮抗性の解明
- ◆ ナルフラフィンを基盤とした新規OX1R選択的拮抗薬の開発

### 謝辞

東レ株式会社  
新藤一功様、宮本純子様  
実験データ提供  
株式会社シンファクトリー