

# 学位論文内容要旨

氏名：藤村 森広



題目：新規  $\mu$  オピオイド受容体部分作動薬 TRK-130 (Naltalimide) の過活動膀胱治療薬としての薬理学的特性に関する検討

要旨：

<背景・目的>

過活動膀胱 (OAB) とは「切迫性尿失禁の有無に係わらず尿意切迫感を有する状態であり、通常、頻尿及び夜間頻尿を伴い、かつ炎症・感染又は他の明らかな病理変化が認められないもの」を指す。OAB の有症状率は、全国 40 歳以上の男女を対象とした日本排尿機能学会の調査にて、12.4% (2013 年実施の疫学調査では 20.0%) と報告されており、推定実数は 810 万人に及ぶ。OAB は加齢にともない罹患率が高まるとともに、長時間の移動を伴う旅行ができない、十分な睡眠がとれないなど日常生活の質を著しく低下させることも知られ、近年は治療対象として重要な疾患と捉えられている。

OAB 治療の主体は薬物療法であり、主に抗コリン系薬剤が用いられているが、治療効果、副作用 (口渇、便秘、視覚障害、不整脈など) の面などから、その治療継続率は低く (6 ヶ月 : 50%、1 年 : 25%)、医療現場での治療満足度は必ずしも高くない。このため、抗コリン薬とは異なる作用機序の OAB 治療薬が待たれており、末梢性に作用する  $\beta_3$  アドレナリン作動薬などでは、臨床にて OAB 治療の有用性が既に示されている。一方、OAB による膀胱から中枢への信号伝達過敏状態の抑制をターゲットとする新規 OAB 治療薬創出の試みも数多く行われているが、臨床にて中枢仲介性の機序による OAB 治療の有用性は十分に示されていない。

オピオイド受容体は、 $\mu$ 、 $\delta$  及び  $\kappa$  の 3 つのサブタイプに分類され、主に  $\mu$  及び  $\delta$  オピオイド受容体作動薬が脊髄または上位中枢レベルで排尿反射の制御に関与することが報告されている。一方、OAB 治療薬には QOL 改善薬として高い安全性が求められるため、オピオイドで懸念される便秘や薬物依存は大きな問題であった。しかし、排尿反射抑制作用を有しつつオピオイド由来の副作用は

少ない複数のオピオイド受容体作動薬が近年報告され、新規機序で有益な OAB 治療薬になり得ると考えられている。

TRK-130 (Naltalimide、図 1) は東レにて見出された経口投与可能な新規  $\mu$  オピオイド受容体部分作動薬である。本研究では、TRK-130 の OAB 治療薬としての可能性検討を目的として、TRK-130 のヒトオピオイド受容体サブタイプに対する *in vitro* 選択性、作動活性評価をはじめ、麻酔下や覚醒下のラットやモルモットを用いた各種 *in vivo* 試験にて、既存  $\mu$  オピオイド受容体作動薬や抗コリン薬との比較を適宜取り入れ、当該化合物の作用点を含めた排尿反射機構における薬理学的特性に関して評価を行った。

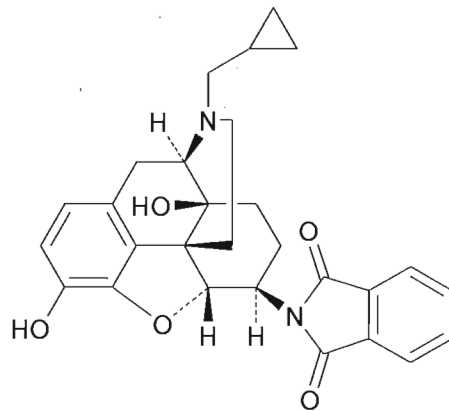


図1. TRK-130構造式

## <方法>

### (1) ヒト $\mu$ 、 $\delta$ 及び $\kappa$ オピオイド受容体に対する結合親和性

ヒト  $\mu$ 、 $\delta$  受容体をそれぞれ安定発現させた CHO 細胞、ヒト  $\kappa$  受容体を安定発現させた HEK-293 細胞由来の細胞膜を用いて受容体結合試験を実施し、各被験物質の親和性 ( $K_i$ ) を算出した。

### (2) ヒト $\mu$ 、 $\delta$ 及び $\kappa$ オピオイド受容体に対する作動活性

ヒト  $\mu$ 、 $\delta$  及び  $\kappa$  受容体をそれぞれ安定発現させた CHO 細胞にて、forskolin 誘発の細胞内 cAMP 蓄積に対する抑制作用を指標に作動活性を評価した。標準的完全作動薬に DAMGO ( $\mu$ )、DPDPE ( $\delta$ ) 及び U-69593 ( $\kappa$ ) を使用し、各被験物質の  $E_{max}$ 、 $EC_{50}$  を算出した。

### (3) 麻酔下モルモットの律動性膀胱収縮に対する作用

ウレタン麻酔した Hartley 系雌モルモットの尿道を結紮後、膀胱内に刺入したポリエチレン (PE) チューブを介して生理食塩水を注入した。安定した律動性膀胱収縮を確認後、被験物質を静脈内投与して膀胱収縮の消失時間及び膀胱収縮時最高膀胱内圧への作用を評価した。

#### (4) 麻酔下モルモットの尿流動態に対する作用

ウレタン麻酔した Hartley 系雄モルモットの膀胱に、排尿が起こるまで一定速度で PE チューブを介して生理食塩水を注入した。被験物質を静脈内投与して膀胱容量 (BC)、排尿量 (Vv)、最大尿流率 (Qmax)、最大尿流時膀胱内圧 (Pves(Qmax)) 及び排尿効率 (Ve) への作用を評価した。

#### (5) 覚醒下モルモット化学物質誘発頻尿モデルに対する作用

実験 2 日前に Hartley 系雌モルモットに formalin を外尿道口から膀胱内注入し頻尿状態を惹起した。被験物質を経口投与して排尿頻度、1 回あたりの排尿量及び総排尿量への作用を測定し、抗頻尿作用を評価した。

#### (6) 麻酔下脊髄切断モルモットの律動性膀胱収縮に対する作用

実験 2 日前に Hartley 系雄モルモットの脊髄を Th12-L2 間で完全切断した。後肢麻痺を示したモルモットのみを用い、ウレタン麻酔下にて律動性膀胱収縮を発現させて評価に用いた。

#### (7) 麻酔下ラット骨盤神経末梢端刺激誘発膀胱収縮反応に対する作用

ウレタン麻酔した Wistar 系雄ラットの両側骨盤神経を膀胱近傍にて剥離、切断して一方の末梢端側に双極性白金電極を装着し、矩形波刺激 (条件: 10 Hz、5 V、1 msec) を 5 分毎に 5 秒間与えた。被験物質を静脈内投与して神経刺激誘発膀胱収縮への作用を評価した。

#### (8) マウス腸管輸送能に対する作用

被験物質を ddY 系雄マウスに皮下投与し、その 15 分後に活性炭含有アラビアゴムを経口投与した。経口投与 20 分後に腸管を摘出して活性炭移動距離を測定し、輸送能への作用を評価した。

### <結果及び考察>

- (1) TRK-130 は  $\mu$  受容体に選択的に高い親和性を示した。 $\mu$  受容体に対する TRK-130 の  $K_i$  は morphine の 1/43 であり、morphine より高い  $\mu$  受容体親和性を示した (表 1)。

表1. ヒト $\mu$ 、 $\delta$ および $\kappa$ オピオイド受容体に対する結合親和性

評価化合物	Ki値 (nmol/L)		
	$\mu$ 受容体	$\delta$ 受容体	$\kappa$ 受容体
TRK-130	0.268±0.012	121±6	8.97±1.05
Morphine	11.5±0.4	1517±150	445±11

Ki値は3回の実験から得られた値の平均値±SEMで表示

- (2)  $\mu$  受容体発現細胞にて、TRK-130 は forskolin 刺激による細胞内 cAMP 蓄

積を濃度依存的に阻害し、Emax は 66.1%と部分作動性を示し、EC<sub>50</sub> は 2.39 nM であった。既存  $\mu$  受容体作動薬である morphine と buprenorphine の Emax はそれぞれ 100.0%と 90.8%、EC<sub>50</sub> は 19.9 nM と 4.49 nM であり、TRK-130 の Emax はこれらに比べ有意に低かった(図 2)。TRK-130 は  $\delta$ 、 $\kappa$  受容体に対しても部分作動性を示した。

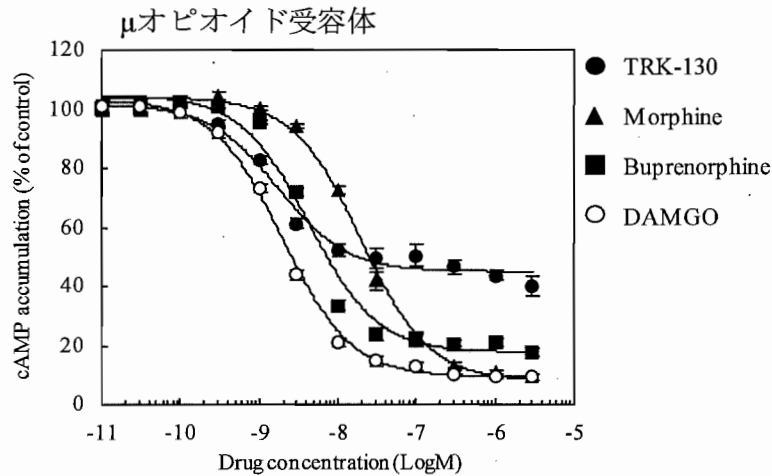


図2. ヒト  $\mu$  オピオイド受容体安定発現細胞における作動活性評価  
細胞内cAMP蓄積は50  $\mu$ mol/L forskolin単独刺激時の細胞内cAMP蓄積量を100%とした  
ときの変化率(%)で表示  
各点は個別に実施した3回の実験から得られた6 well分の結果の平均値 $\pm$ SEMを表示

- (3) 静脈内投与した TRK-130 は用量依存的に膀胱収縮の消失時間を延長 (ED<sub>30</sub>=0.0034 mg/kg) し、最高膀胱内圧には影響を及ぼさなかった。Morphine も消失時間を延長 (ED<sub>30</sub>=0.62 mg/kg) し、最高膀胱内圧には影響を与えなかった。一方、抗コリン薬の oxybutynin (1 mg/kg) は、最高膀胱内圧を投与前値の 72.7%までに有意に低下させたが、消失時間には影響を与えなかった。TRK-130、morphine は排尿筋の収縮力に影響を及ぼさずに排尿反射の発生を抑制し、oxybutynin は排尿筋収縮力を減弱させるものの、排尿反射の発生には影響を及ぼさないことが示された。

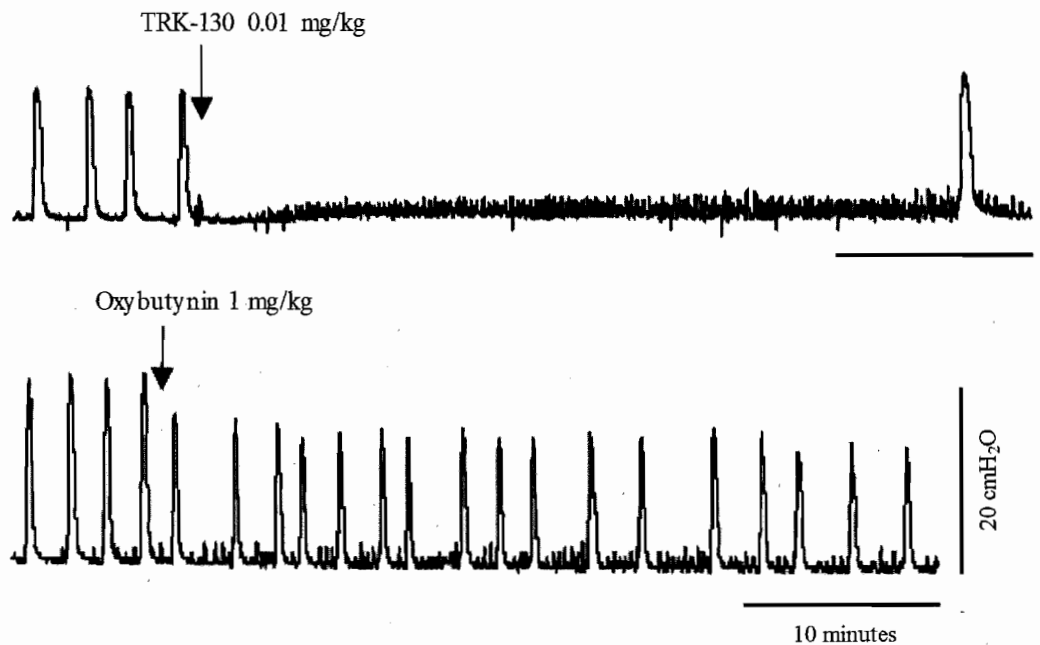


図3. 律動的膀胱収縮の代表的チャート

- (4) TRK-130 (0.0025 mg/kg)、oxybutynin (1 mg/kg) の静脈内投与は同程度にまで有意に膀胱容量を増加 (それぞれ 34%、35%) させ、oxybutynin では  $V_e$ 、 $Q_{max}$  及び  $P_{ves}(Q_{max})$  が溶媒群に比べ有意に低下したが、TRK-130 では影響は認められなかった。これより、TRK-130 は oxybutynin と異なり、中枢にて排尿反射を調節することにより蓄尿機能を向上させ、排尿圧や排尿効率に影響を及ぼさないものと考えられた。
- (5) 覚醒下 formalin 誘発頻尿モデルにて、経口投与した TRK-130 は 0.01 mg/kg 以上で排尿頻度を有意に減少させ、1 回あたりの排尿量は有意に増加させた。総排尿量には影響を与えなかった。TRK-130 は経口投与にて抗頻尿作用を有することが示された。
- (6) TRK-130 は脊髓切断の有無によらず用量依存的に膀胱収縮の消失時間を延長し、最高膀胱内圧には影響を及ぼさなかった。TRK-130 の排尿反射抑制作用は上位中枢の影響がない状態でも保持されていることが示された。
- (7) TRK-130 (0.005 mg/kg) の静脈内投与は骨盤神経末梢端刺激誘発膀胱収縮には影響を与えなかったが、oxybutynin (1 mg/kg) は有意な抑制作用を示した。TRK-130 は oxybutynin と異なり、末梢側に作用点を有さないことが示された。
- (8) 静脈内投与した TRK-130 (0.01 mg/kg)、morphine (1 mg/kg) の排尿反射抑制作用は、代表的  $\mu$  受容体拮抗薬 naloxone の同時投与により用量依存的

に拮抗された。AD<sub>50</sub>はそれぞれ 0.012 mg/kg、0.0012 mg/kg であり、naloxone 拮抗性の感受性は morphine でより高いことが示された。

(9) TRK-130 は 10 mg/kg の皮下投与においても腸管輸送能に影響を及ぼさなかった。一方、morphine、buprenorphine は用量依存的に輸送能を阻害し、ID<sub>50</sub> はそれぞれ 1.01 mg/kg、0.326 mg/kg であった。

#### <結論>

TRK-130 は  $\mu$  受容体選択的部分作動薬であり、経口投与にて中枢において排尿反射を調節することにより蓄尿機能を向上させ、排尿圧や排尿効率など排尿機能に影響を及ぼすことなく抗頻尿作用を示すことが明らかとなった。一方、従来に比べ  $\mu$  受容体作動活性由来の便秘の懸念は少ないことが明らかとなった。

以上より、TRK-130 は OAB 治療薬として望ましい薬理特性を有し、臨床にて OAB の有用な治療選択肢の一つになり得るものと考えられた。

以上