

新規ニューロキニン1受容体拮抗薬 **FK886** の
制吐薬としての有用性に関する研究

2014年
古川 尊子

目次

序論	1
第1章 FK886 の薬理学的特徴	
1 緒言	5
2 方法	5
3 結果	8
4 考察	12
5 小括	15
第2章 FK886 のイヌシスプラチン誘発嘔吐およびアポモルヒネ誘発嘔吐に対する作用	
1 緒言	16
2 方法	16
3 結果	18
4 考察	23
5 小括	24
第3章 FK886 のフェレットシスプラチン誘発急性および遅発性嘔吐に対する作用	
1 緒言	25
2 方法	25
3 結果	28
4 考察	39
5 小括	41
総括	42
謝辞	44
引用文献	45
論文目論	53

序論

ニューロキニン 1 (NK₁) 受容体は、タキキニン受容体ファミリーに属する G タンパク質共役型受容体 (GPCR) である (1, 2)。タキキニンとは C 末構造に共通の配列 (-Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂) を持つ一連の神経ペプチドの総称であり、これらのペプチドはその共通配列に由来する平滑筋収縮、血管弛緩、唾液分泌等の活性を有する。下等な無脊椎動物から哺乳類までの間に 40 種類を超えるタキキニンが見つかった (3, 4)、うち哺乳類に存在する主要なタキキニンはサブスタンス P、ニューロキニン A、ニューロキニン B の 3 つであり、いずれも 10~11 アミノ酸からなる直鎖アミノペプチドである (Table 1) (5-7)。NK₁ 受容体はこのうちサブスタンス P を主な内因性リガンドとすると考えられている (8)。

ヒト NK₁ 受容体は、407 アミノ酸から成るクラス A (ロドプシン様) に分類される 7 回膜貫通型タンパク質である (9, 10)。NK₁ 受容体は Gq タンパク質と共役しており、リガンドの結合によりホスホリパーゼ C (PLC) の活性化を介して、セカンドメッセンジャーであるイノシトール 1,4,5-三リン酸 (IP₃) およびジアシルグリセロールの産生を引き起こす (2)。タキキニン受容体には NK₁ の他、NK₂、NK₃ のサブタイプが存在し、いずれも NK₁ 受容体と同じ Gq タンパク質共役型 GPCR である (11)。NK₁ にはサブスタンス P が、また、NK₂、NK₃ 受容体にはそれぞれニューロキニン A、ニューロキニン B が最も強く結合するが (4, 12)、タキキニン受容体のリガンド選択的は高くなく、いずれのタキキニンも 3 つの受容体の全てに結合し、フルアゴニスト活性を示すことができる (13)。また、近年新たに同定されたタキキニンであるヘモキニン-1 やエンドキニン A-D (14, 15) は NK₁ 受容体に強く結合しアゴニスト活性を示すことが報告されている (16)。

サブスタンス P は中枢および末梢神経に広く分布する。また、神経以外にも血管上皮細胞や炎症・免疫細胞等にその発現が認められる (4, 17)。一方、NK₁ 受容体は中枢および末梢神経系その他、消化管、泌尿生殖路、呼吸路、炎症・免疫細胞等に発現が認められる (4)。このことから、サブスタンス P-NK₁ 受容体経路が生理的あるいは疾患における様々な反応に寄与する可能性が考えられる。これまでに、NK₁ 受容体活性化は痛覚やストレスシグナルの伝達その他、神経原性炎症の誘発やマクロファージ・リンパ球の活性化、各種サイトカイン産生の調節、また、直接的または間接的に働いて各種平滑筋の収縮性調節に関わること、また、中枢においても直接的あるいはドーパミンやアドレナリンの分泌調節を介して様々な神経伝達経路を調節すること等が報告されている (1, 17-20)。これらのことから、NK₁ 受容体拮抗薬は、痛み、不安・うつなどのストレス関連疾患、片頭痛、炎症性腸疾患、過活動膀胱などの泌尿器疾患、喘息、気管支炎や慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患、等、様々な疾患の治療薬となる可能性が考えられた。しかしながら、実際に NK₁ 受容体拮抗薬が臨床で明らかな薬効を示したのは、中枢作用型 NK₁ 受容体拮抗薬による

Table 1 Amino acid sequences of mammalian tachykinins.

Substance P	Arg ¹ -Pro ² -Lys ³ -Pro ⁴ -Gln ⁵ -Gln ⁶ -Phe ⁷ -Phe ⁸ -Gly ⁹ -Leu ¹⁰ -Met ¹¹ -NH ₂
Neurokinin A	His ¹ -Lys ² -Thr ³ -Asp ⁴ -Ser ⁵ -Phe ⁶ -Val ⁷ -Gly ⁸ -Leu ⁹ -Met ¹⁰ -NH ₂
Neurokinin B	Asp ¹ -Met ² -His ³ -Asp ⁴ -Phe ⁵ -Phe ⁶ -Val ⁷ -Gly ⁸ -Leu ⁹ -Met ¹⁰ -NH ₂

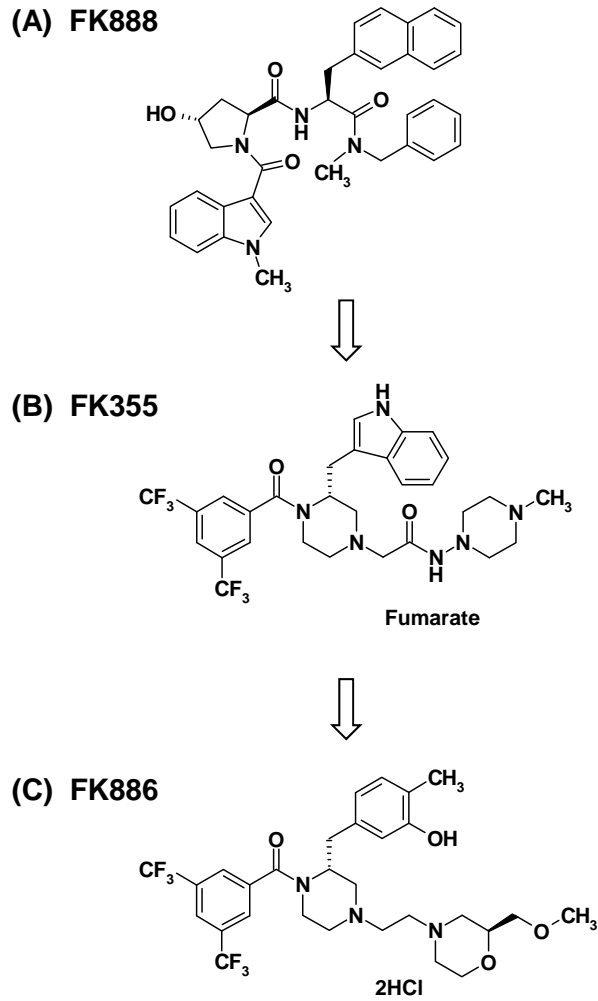


Fig. 1 Discovery of FK886

がん化学療法による嘔吐あるいは術後嘔吐に対する適応のみであった (20)。

このような背景の下、自社 (アステラス製薬; 旧藤沢薬品工業) において最初に取得された NK₁ 拮抗薬は、ジペプチド性拮抗薬の FK888 (Fig. 1A) であった。FK888 は、サブスタンス P の C 末側 8 アミノ酸残基のアナログである [D-Pro⁴, D-Trp^{7,9,10}, Phe¹¹]SP₄₋₁₁ を基にデザインされた化合物で、サブスタンス P と同等の NK₁ 受容体結合活性を有している (21, 22)。しかしながら、FK888 は経口吸収性が不良 (23) かつ脳内移行性が無いという特徴をも有しており、吸入投与にて気管支ぜんそく、慢性気管支炎および片頭痛を適応に臨床試験を実施したものの十分な薬効を得ることができなかった。この一方で、FK888 をテンプレートに、非ペプチド性拮抗薬の取得を目標とした誘導体合成研究が展開され、経口吸収性を有するが脳内移行性のない非ペプチド性拮抗薬 FK355 (Fig. 1B) (24) を経て得られたのが、経口吸収性と脳内移行性の両方を有する FK886, [3,5-bis(trifluoro-methyl)phenyl][(2R)-2-(3-hydroxy-4-methylbenzyl)-4-piperazin-1-yl]methanone dihydrochloride (Fig. 1C) (25) である。

本研究では、この FK886 の薬理学的特徴を明らかにするとともにその制吐薬としての有用性について検討した。嘔吐は、延髄にある嘔吐中枢の興奮によって起こる、食道上部の弛緩と腹部内圧の上昇によって胃内容物を吐出する反射である (26, 27)。この反射は腸管内の有害物質を排出する防御反応の一つと考えられるが、その他にも妊娠や乗り物の加速度、消化器疾患など様々な刺激が嘔吐を誘発する。また、医療現場においては、医薬品や手術時の麻酔が嘔吐の原因となることがある。このような副作用としての嘔吐は患者の生活の質を損ない、患者の回復を遅らせる原因となる (28)。

医薬品の副作用としての嘔吐の中で最も頻度が高く重篤なもののがん化学療法による悪心・嘔吐 (chemotherapy-induced nausea and vomiting ; CINV) がある。CINV は化学療法剤投与直後に現れる急性のものと、投与 24 時間前後から数日間にわたり持続する遅発性のものとに分けられる。急性嘔吐は、化学療法剤により腸管のエンテロクロマフィン細胞より遊離したセロトニンが、5-HT₃ 受容体活性化を介して迷走神経求心性線維を刺激することにより嘔吐中枢にシグナルが送られ誘発されると考えられている (29, 30)。このように急性嘔吐の発症メカニズムは比較的明らかとなっており、また実際、急性嘔吐は 5-HT₃ 受容体拮抗薬の投与により良好にコントロールされる (31, 32)。これに対し、化学療法剤誘発遅発性嘔吐の発症メカニズムは未だ明らかになっておらず、5-HT₃ 受容体拮抗薬の有効性も低い (33, 34)。近年、脳内移行性を有する NK₁ 受容体拮抗薬が、動物におけるシスプラチン誘発の急性および遅発性嘔吐の両者を抑制することが明らかとなり (35-38)、NK₁ 受容体の活性化が中枢神経系における急性/遅発性嘔吐共通の経路に関与する可能性が示された (39)。さらに、2003 年に NK₁ 受容体拮抗薬であるアプレピタント (イメンド®) が臨床で用いられるようになって以来、NK₁ 受容体拮抗薬の制吐剤としての有用性を示すエビデンスが蓄積されている (40-42)。

本論文において、第 1 章では FK886 の薬理学的特徴を示すため、*in vitro* における受容体結合ならびに機能について検討し、さらに *in vivo* における脳内 NK₁ 受容体に対する拮抗作用ならびに脳内移行性を確認した。第 2 章では FK886 の制吐薬としての有用性について検討するため、嘔吐誘発物質に対する感受性が最も高いイヌを用い、末梢性刺激誘発嘔吐モデルであるシスプラチン誘発嘔吐および中枢性刺激誘発嘔吐モデルであるアポモルヒネ誘発嘔吐に対する制吐作用を検討した。また、FK886 の経口吸収性ならびに作用の発現・持続に関する特徴を明らかにした。さらに第 3 章では、CINV への適応を念頭に、特に臨床において依然大きな問題となっている遅発性嘔吐に対する FK886 の作用を検討した。遅発性嘔吐の前臨床試験系として汎用されるフェレットシスプラチン誘発嘔吐モデルを用い、FK886 の経口投与における薬効について検討した。さらに、その制吐作用の作用点を明らかにする目的でフェレットの GR73632 誘発嘔吐モデルおよび硫酸銅誘発嘔吐モデルに対する作用を検討した。

略語一覽

<i>p</i> -APMSF	<i>p</i> -Amidinophenylmethanesulfonyl fluoride
BSA	bovine serum albumin
CINV	chemotherapy induced nausea and vomiting
CHO	chinese hamster ovary
DMSO	dimethylsulfoxide
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
Gq	guanine nucleotide-binding protein alpha-q subunit
5-HT	5-hydroxytryptamine, serotonin
i.c.v.	intracerebroventricular
i.p.	Intraperitoneal
IP ₃	inositol 1,4,5-trisphosphate
i.v.	intravenous
MEM	minimum essential medium
<i>p.o.</i>	<i>per os</i> , oral
PLC	phospholipase C
s.c.	subcutaneous
Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethane

第1章 FK886の薬理学的特徴

1 緒言

本章では、新規NK₁受容体拮抗薬FK886の薬理学的特徴について検討した。まず、*in vitro*では、各種受容体に対する結合活性を調べるためリガンド結合試験ならびにNK₁発現細胞におけるイノシトールリン酸蓄積を指標にした機能評価試験を実施した。次に、*in vivo*におけるFK886のNK₁受容体活性化阻害作用および脳内移行性を調べるため、スナネズミを用いたGR73632（選択的NK₁受容体作動薬）誘発後肢タッピング試験を実施した。さらにFK886の脳内移行性を、放射標識体を用いたラット脳内移行性試験により直接的に評価した。

2 方法

2.1 膜標本の調製

ヒトNK₁、NK₂およびNK₃受容体結合試験はAramoriらの方法に従った(43)。ヒトタキキニン受容体としては、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞に発現させたリコンビナントタンパクを用いた。ヒトNK₁、NK₂およびNK₃受容体発現CHO細胞を培養、増殖させて回収し、10 mM塩化マグネシウム、1 mMエチレンジアミン四酢酸(EDTA)、5 μg/mL *p*-アミジノフェニルメタンスルホニルフルオリド(*p*-APMSF)および0.25 M ショ糖を含有する25 mM トリス(Tris)塩酸緩衝液(pH 7.4)中でホモジナイズした。ホモジネートを500 × g、10分間遠心後、上清を100000 × g、60分間遠心して膜画分ペレットを得た。これを10 mM塩化マグネシウム、1 mM EDTA、5 μg/mL *p*-APMSFを含有する25 mM トリス塩酸緩衝液(pH 7.4)に懸濁し、膜標本とした。

ヒト以外の動物種のNK₁受容体結合試験には、イヌ、フェレット、スナネズミ、モルモット、ラットの前脳膜標本を用いた。前脳組織を、0.1 mM EDTA および0.32 M ショ糖を含有する1 mMリン酸カリウム緩衝液(pH 7.5)中でホモジナイズし、ホモジネートを1000 × g、10分間遠心後、上清を20000 × g、20分間遠心した。得られたペレットを純水に懸濁し、氷上に45分間静置した後、再び懸濁してから8000 × g、20分間遠心し、上清をさらに25000 × g、20分間遠心して膜画分ペレットを得た。これを5 mM トリス塩酸緩衝液(pH 7.5)に懸濁して25000 × g、20分間遠心する操作を3回繰り返して洗浄し、得られたペレットを5 mM トリス塩酸緩衝液(pH 7.5)に懸濁して膜標本とした。以上の操作は記載のあるもの以外全て4℃で行なった。

2.2 タキキニン受容体結合試験

化合物の各種タキキニン受容体に対する結合強度は膜標本への放射性リガンドの結合に対する阻害活性を指標とした。試験はAramoriらの方法に従った(43)。アッセイバッファーには5 mM塩化マンガン、0.2 mg/mL ウシ血清アルブミン(BSA)、5 μg/mL *p*-APMSF、4 μg/mL ロイペプチン、40 μg/mL バシトラシン、20 μg/mL キモスタチンを含有する50 mM トリス塩酸緩衝液(pH 7.4)を用い、アッセイ容量は250 μLとした。結合反応は放射リガンドと被験薬物の混合液中に膜懸濁

液を添加することにより開始し、0.1%ポリエチレンイミン水溶液に浸漬したガラスフィルターを用いて急速濾過することにより停止した。ガラスフィルターは5 mM 塩化マンガン含有50 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4) で2回洗浄後、ガンマカウンターを用いてその放射活性を測定した。NK₁受容体においては、膜標本 (ヒト 6 µg protein, ヒト以外 90-150 µg protein) を100 pM [¹²⁵I]サブスタンス P とともに室温で90分間 (ヒト) もしくは30分間 (ヒト以外) インキュベートした。3 µM 非標識サブスタンス P 存在下での [¹²⁵I]サブスタンス P 結合量を非特異的結合量とした。NK₂受容体においては、膜標本 (16 µg protein) を100 pM [¹²⁵I]ニューロキニン A とともに室温で30分間インキュベートした。3 µM 非標識ニューロキニン A 存在下での結合量を非特異的結合量とした。NK₃受容体においては、膜標本 (10 µg protein) を100 pM [¹²⁵I]ニューロキニン B とともに室温で60分間インキュベートした。3 µM 非標識ニューロキニン B 存在下での結合量を非特異的結合量とした。なお、NK₃受容体結合試験のみ、急速濾過に用いるガラスフィルターは0.2% BSA水溶液に浸漬したものを用了。全ての試験は二重測定にて3回繰り返した。

2.3 タキキニン非関連各種受容体等に対する結合試験

タキキニン非関連の各種受容体、イオンチャネル、トランスポーターにおける55のリガンド結合部位における結合試験を第一化学薬品 (東京) において実施した。各結合部位における試験条件詳細は Table 3 に示した。

2.4 *In vitro* 機能試験

NK₁受容体はGq共役型受容体であることから、受容体活性化はリガンドの結合により活性化されたGqがPLC活性化を介してIP₃産生を引き起こす反応を、イノシトールリン酸分解酵素阻害剤であるリチウムの存在下で細胞内に蓄積する総イノシトールリン酸 (IPs) 量を測定することにより評価した。試験はAramoriらの方法に従った (43)。すなわち、NK₁受容体発現CHO細胞を12ウェルプレートに1ウェルあたり1×10⁵個播種し、10%牛胎児血清含有アルファ最小必須培地 (α-MEM) 中で1日培養後、37 KBq/mL の [³H]ミオイノシトールを含むラベリング用 α-MEM 中で18-24時間培養した。アッセイ直前に細胞をアッセイバッファー (0.2% BSA 含有リン酸緩衝生理食塩水) で2回洗浄し、アッセイバッファー中で37°C、30分間インキュベートした。続いて、FK886 (0.32-100 nM) および10 mM 塩化リチウムを添加したアッセイバッファー中で37°C、30分間プレインキュベーションした後、アゴニスト刺激をかけた。アゴニスト刺激はウェル中の溶液を3.2 nM サブスタンス P、プレインキュベーション時と同じ濃度のFK886 および10 mM 塩化リチウムを含むアッセイバッファーと交換することにより開始した。37°C、30分間の反応後、各ウェル中の溶液を除去し、1 mL の5% (w/v) トリクロロ酢酸を分注することにより反応を停止した。これを氷上に1時間静置したのち、各ウェル中の細胞抽出液をガラス試験管に移した。トリクロロ酢酸を除去するため、細胞抽出液を2 mL の水飽和ジエチルエーテルで2回洗浄した。これに150 µL の0.2 M トリス塩基を混和し、陰イオン交換樹脂 (AG1-X8 formate, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, U.S.A.) を充てんしたカラムにアプライした。遊離イノシトールおよびグリセロリン酸イノシチドを除去するため、10 mL の水、続いて5 mL の5 mM 四ホウ酸ナトリウム/60 mM ギ酸ナトリウム混合液でカラムを洗浄した後、2.5 mL の0.1 M ギ酸/1 M ギ酸アン

モニウム混合液で総³H]IPs を溶出した。溶出液の放射活性は液体シンチレーションカウンターで測定した。実験は3回繰り返し、実験毎の陰性対照（サブスタンス P 非添加）ウェルの放射活性を1としたときの放射活性の比を用いて解析を行った。

2.5 使用動物

7週令雄性スナネズミ（MON/JmsGbs）は日本エスエルシー（静岡）より、7週令雄性Sprague-Dawley ラットは日本クレア（東京）より購入した。動物は水および飼料を自由に摂取させ、室温 23±1°C、湿度 55±5%、7-19 時点灯条件下で1週間予備飼育した後、実験に使用した。実験は全てアステラス製薬（株）動物実験委員会の承認を得て行われた。

2.6 スナネズミにおける GR73632 誘発後肢タッピング試験

実験は Bristow らの方法に準じて行った (44)。エーテル麻酔下にスナネズミの頭頂部を正中線に沿って小切開し頭がい骨を露出した。カフを付けたマイクロシリンジの針先を十字縫合 (bregma) より垂直に 4.5 mm 深さに挿入し、選択的 NK₁ 受容体作動薬、GR73632 (10 pmol/5 μL/匹) を脳室内に注入した。傷口を閉じてスナネズミを観察ケージに移し、GR73632 投与により誘発される間欠性かつ反復性の後肢タッピング（後肢を踏み鳴らす行動）の開始および終了時間を計測した。観察時間は GR73632 投与から 60 分間とし、後肢タッピングが 30 秒以上中断した時の中断した時点を反応の終了時間とした。FK886 (0.01–0.1 mg/10 mL/kg) はエーテル麻酔下、GR73632 投与 1 分前に頸静脈内に投与した。また、同時に脳内移行性を持たない NK₁ 受容体アンタゴニストである FK355 の作用を検討した。FK355 はエーテル麻酔下、GR73632 投与 1 分前に静脈内 (0.32–3.2 mg/10 mL/kg) あるいは脳室内 (1–100 nmol/5 μL/匹) に投与した。いずれの試験においても対照群の動物には同じ容量の溶媒を投与した。

2.7 放射標識体化合物を用いたラット脳内移行性試験

ラットは試験前日より一晩絶食した。この間、摂水は自由とした。¹⁴C]FK886 (3.2 mg/1.13 MBq/mL/kg) または¹⁴C]FK355 (1 mg/1.19 MBq/mL/kg) を尾静脈内に投与し、5 分後、エーテル麻酔下に大動脈より採血後、脱血致死させ直ちに大脳を採取した。大脳サンプルは秤量し、10% (w/v) となるよう水を加えてホモジナイズした。血漿サンプルおよび大脳ホモジネート 100 μL を分取し 1 mL の Soluene-350 (PerkinElmer) にて可溶化後、10 mL の Econofluor (PerkinElmer) を混合し、その放射活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。バックグラウンドの放射活性は薬物非投与ラットのサンプルを同様に処理して取得した。バックグラウンドの放射活性の 2 倍を検出下限とした。

2.8 試薬

FK886, FK888 および FK355 はアステラス製薬株式会社化学研究所にて合成された。 $[^{14}\text{C}]$ FK886 (1.06 MBq/mg) および $[^{14}\text{C}]$ FK355 (1.19 MBq/mg) はそれぞれ GE healthcare UK (Buckinghamshire, England) および積水メディカル (東京) にて合成された。 $[^{125}\text{I}]$ サブスタンス P ($[^{125}\text{I}]$ Bolton-Hunter-labeled-Lys³-substance P; 81.4 TBq/mmol), $[^{125}\text{I}]$ ニューロキニン A ($[^{125}\text{I}]$ neurokinin A; 81.4 TBq/mmol), $[^{125}\text{I}]$ ニューロキニン B ($[^{125}\text{I}]$ MePhe⁷-neurokinin B; 81.4 TBq/mmol) は PerkinElmer (Boston, MA, U.S.A) より購入した。また, $[^3\text{H}]$ ミオイノシトール (myo- $[2\text{-}^3\text{H}]$ inositol; 666 GBq/mmol) は GE healthcare UK (同上) より購入した。サブスタンス P, ニューロキニン A およびニューロキニン B はペプチド研究所 (大阪) より, また GR73632 は Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, U.S.A) より購入した。その他一般試薬はナカライテスク, 和光純薬あるいは関東化学より購入した。

In vitro 実験では, FK886, FK888 および FK355 はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解したものをアッセイバッファーで希釈し使用した。反応液中の DMSO 終濃度は全て 0.1%以下となるようにした。*In vivo* 実験では FK886, FK355 および GR73632 は全て生理食塩水に溶解した。

2.9 統計解析

結果は, 特に記載があるもの以外, 平均値 \pm 標準誤差で表した。*In vitro* 試験における IC₅₀ 値は, 各被験物質濃度の陽性対照(被検薬物非存在下)に対する抑制率を求め, うち抑制率が 5~95% の間にあるものを log-logit 変換後, 最小二乗法で直線回帰して算出した。対照群との比較は一元配置分散分析後 Dunnett 型多重比較検定により行い, $p < 0.05$ を有意とした。

3 結果

3.1 結合試験

FK886 はヒト NK₁ 受容体に対する $[^{125}\text{I}]$ サブスタンス P の結合を濃度依存的に抑制した。その IC₅₀ 値は 0.70 nM であり, これは FK886 のプロトタイプ化合物である FK888, FK355 とほぼ同等であった (Table 2)。一方, FK886 はヒト NK₂ 受容体に対してヒト NK₁ 受容体に対する結合より

Table 2 Affinities of FK compounds for human recombinant tachykinin receptors.

Compound	Receptor	IC ₅₀ (nM)	
		Mean	95% Confidence interval
FK886	NK ₁	0.70	0.62-0.78
	NK ₂	180	87-280
	NK ₃	>15000	-
FK888	NK ₁	3.1	2.8-3.3
FK355	NK ₁	1.4	1.3-1.6

Values were obtained from three separate experiments performed in duplicates

Table 3 Affinity of FK886 for various receptors, ion channels and transporters unrelated to tachykinin receptors.

Binding site	Source	Radio ligand	IC ₅₀ (μM)
Adenosine A ₁	rat brain	[³ H]CCPA (7 nM)	> 1
Adenosine A ₂	rat striatum	[³ H]CGS-21680 (6 nM)	> 1
Adenosine A ₃	rat recombinant	[¹²⁵ I]AB-MECA (1 nM)	> 1
α ₁ -Adrenergic (Non-selective)	rat brain	[³ H]Prazosin (0.5 nM)	> 1
α ₂ -Adrenergic (Non-selective)	rat cerebral cortex	[³ H]RX821002 (1 nM)	> 1
β-Adrenergic (Non-selective)	rat brain	[³ H]DHA (0.5 nM)	> 1
Angiotensin II (Type 1)	human recombinant	[¹²⁵ I]Angiotensin II (0.15 nM)	> 1
Angiotensin II (Type 2)	human recombinant	[¹²⁵ I]CGP 42112A (0.02 nM)	> 1
Bradykinin B ₂	human recombinant	[³ H]Bradykinin (0.2 nM)	> 1
Ca channel (L, Benzothiazepine)	rat cerebral cortex	[³ H]Diltiazem (2.5 nM)	> 1
Ca channel (L, Benzothiazepine)	guinea pig heart	[³ H]Diltiazem (2.5 nM)	> 1
Ca channel (N)	rat cerebral cortex	[¹²⁵ I]ω-conotoxin (0.005 nM)	> 1
Ca channel (N)	guinea pig heart	[¹²⁵ I]ω-conotoxin (0.005 nM)	> 1
Cholecystokinin A	human recombinant	[³ H]L-364718 (0.5 nM)	> 1
Dopamine D ₁	rat striatum	[³ H]SCH-23390 (0.5 nM)	> 1
Dopamine D ₂	rat striatum	[³ H]Spiperone (2 nM)	> 1
Dopamine transporter	human recombinant	[³ H]WIN35428 (2.5 nM)	> 1
Estrogen	rat uterine	[³ H]β-Estradiol (1 nM)	> 1
Endothelin A	human recombinant	[¹²⁵ I]Endothelin-1 (0.1 nM)	> 1
Endothelin B	human recombinant	[¹²⁵ I]Endothelin-1 (0.01 nM)	> 1
GABA _A (Agonist site)	rat cerebellum	[³ H]Muscimol (10 nM)	> 1
GABA _A (Benzodiazepine central)	rat brain	[³ H]Flunitrazepam (1 nM)	> 1
GABA _B	rat cerebral cortex	[³ H]GABA (15 nM) + Isoguvacine (1 μM)	> 1
Galanin	rat brain	[¹²⁵ I]Galanin(0.01 nM)	> 1
Glutamate (AMPA)	rat cerebral cortex	[³ H]AMPA (10 nM)	> 1
Glutamate (Kainate)	rat brain	[³ H]Kainic acid (5 nM)	> 1
Glutamate (NMDA agonist site)	rat cerebral cortex	[³ H]CGP-39653 (5 nM)	> 1
Glutamate (NMDA Glycine site)	rat cerebral cortex	[³ H]MDL105519 (1 nM)	> 1
Glycine (Strychnine-sensitive)	rat spinal cord	[³ H]Strychnine (5 nM)	> 1
Histamine H ₁ (Central)	guinea pig cerebellum	[³ H]Pyrilamine (2.5 nM)	> 1
Histamine H ₂	rat cerebral cortex	[³ H]Cimetidine (35 nM)	> 1
Histamine H ₃	rat brain	[³ H]N-methyl-histamine (0.8 nM)	> 1
Leukotriene B ₄	guinea pig lung	[³ H]Leukotriene B ₄ (0.1 nM)	> 1
Leukotriene D ₄	guinea pig lung	[³ H]Leukotriene D ₄ (0.07 nM)	> 1
Muscarinic (Non-selective)	rat cerebral cortex	[³ H]QNB (0.5 nM)	> 1
Muscarinic M ₁	human recombinant	[³ H]N-Methylscopolamine (0.2 nM)	> 1
Muscarinic M ₂	human recombinant	[³ H]N-Methylscopolamine (0.2 nM)	> 1
NE transporter	human recombinant	[³ H]Nisoxetine (0.5 nM)	> 1
Nicotinic	rat brain	[³ H]L-Nicotine (2.5 nM)	> 1
Opiate (Non-selective)	rat cerebral cortex	[³ H]Naloxone (1.5 nM)	> 1
Oxytocin	rat uterine	[¹²⁵ I]OVTA (0.005 nM)	> 1
PAF	rabbit platelet	[³ H]PAF (1 nM)	> 1
K channel (K _A)	rat cerebral cortex	[¹²⁵ I]Dendrotoxin (0.005 nM)	> 1
K channel (K _{ATP})	rat brain	[³ H]Glibenclamide (0.5 nM)	> 1
K channel (K _V)	rat brain	[¹²⁵ I]Charybdotoxin (0.01 nM)	> 1
K channel (SK _{Ca})	rat brain	[¹²⁵ I]Apamin(0.02 nM)	> 1
Serotonin (Non-selective)	rat striatum	[³ H]Serotonin (2.5 nM)	> 1
Serotonin transporter	human recombinant	[³ H]Imipramine (1.5 nM)	> 1
Sigma (Non-selective)	guinea pig brain	[³ H]DTG (3 nM)	> 1
Sodium channel site 2	rat brain	[³ H]Batrachotoxinin (9 nM)	> 1
Sodium channel site 2	guinea pig heart	[³ H]Batrachotoxinin (9 nM)	0.87
Testosterone	rat prostate gland	[³ H]R1881 (1 nM)	> 1
Thromboxane A ₂	rabbit platelet	[³ H]SQ-29548 (2.5 nM)	> 1
Vasopressin V ₁	rat liver	[³ H]Arg-Vasopressin (1 nM)	> 1
VIP	human recombinant	[³ H]VIP (0.15 nM)	> 1

Table 4 Effects of FK886 on the binding parameters of [¹²⁵I]Bolton-Hunter-labeled substance P to recombinant human NK₁ receptor.

FK886 concentration (nM)	Substance P binding	
	K _D (pM)	B _{max} (pmol/mg protein)
0	91 ± 5.4	4.2 ± 0.25
0.2	100 ± 6.6	3.6 ± 0.34*
0.4	110 ± 2.5*	2.6 ± 0.14**
0.6	170 ± 5.1*	2.5 ± 0.16**

Values are mean ± SEM obtained from three separate experiments performed in duplicate. * p<0.05, ** p<0.01 vs. control value as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

250 倍弱く結合し、また NK₃ 受容体に対して明らかな結合活性を示さなかった。

FK886 は、タキキニン非関連の各種受容体、イオンチャネル、およびトランスポーターにおける 55 のリガンド結合部位のうち 54 の部位に対して明らかな結合活性を持たなかった (IC₅₀>1μM)。また、唯一結合したモルモット心臓ナトリウムチャンネルサイト 2 においてもその結合活性はヒト NK₁ 受容体結合活性に比べ約 1000 倍弱かった (Table 3)。

FK886 の阻害様式を明らかにするため、種々の濃度の FK886 存在下でのヒト NK₁ 受容体 [¹²⁵I] サブスタンス P 飽和結合試験を実施した。FK886 非存在下での [¹²⁵I] サブスタンス P の K_D 値は 91 pM, 最大結合量 (B_{max}) は 4.2 pmol/mg/protein であった。これに対し、FK886 は濃度依存的に [¹²⁵I] サブスタンス P の K_D 値を増加させ、かつ B_{max} を減少させた (Table 4)。

FK886 の NK₁ 受容体結合の種差検討のため、イヌ、フェレット、スナネズミ、モルモット、ラット NK₁ 受容体に対する結合活性を検討した。FK886 のイヌ、フェレット、スナネズミ、モルモット NK₁ 受容体に対する結合活性はヒト NK₁ 受容体に対する結合活性と同等であったが、ラット NK₁ 受容体に対する結合活性はヒト NK₁ 受容体に対する結合活性より 30 倍弱かった (Table 5)。

Table 5 Affinity of FK886 for NK₁ receptors from various animal species.

Source	IC ₅₀ (nM)	
	Mean	95% Confidence interval
Dog forebrain	1.0	1.0-1.0
Ferret forebrain	1.3	1.1-1.6
Gerbil forebrain	1.0	0.94-1.1
Guinea pig forebrain	1.3	1.1-1.6
Rat forebrain	23	20-25

Values were obtained from three separate experiments performed in duplicate.

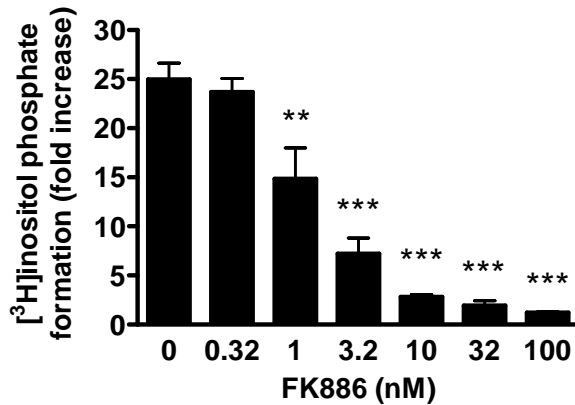


Fig. 2 Antagonist activity of FK886 on substance P-induced inositol phosphate formation in human NK₁ receptor-expressing CHO cells. Results are expressed as the fold increase compared to non-stimulated controls using the mean ± SEM of three separate experiments. **p<0.01, ***p<0.001 vs. control by Dunnett's multiple comparison test.

3.2 *In vitro* 機能試験

ヒト NK₁ 受容体に対する FK886 の機能を調べるため、ヒト NK₁ 受容体発現 CHO 細胞におけるイノシトールリン酸産生に対する作用を検討した。3.2 nM サブスタンス P の刺激により、ヒト NK₁ 受容体発現細胞の細胞内総 [³H]IPs 量は 30 分間で陰性対照の約 25 倍に増加した (Fig. 2)。これに対し、FK886 は濃度依存的に [³H]IPs 量を低下させ、その IC₅₀ 値は 1.4 nM であった。一方、FK886 は単独ではイノシトールリン酸産生を誘発しなかった (データ示さず)。

3.3 スナネズミ GR73632 誘発後肢タッピング試験

FK886 の脳内 NK₁ 受容体に対する作用を明らかにするため、スナネズミの脳室内に選択的 NK₁ 受容体作動薬である GR73632 を直接投与することにより誘発される後肢タッピングに対する作用を検討した。各 NK₁ 受容体拮抗薬の作用持続を調べるため観察時間を 60 分間とし、10 pmol/

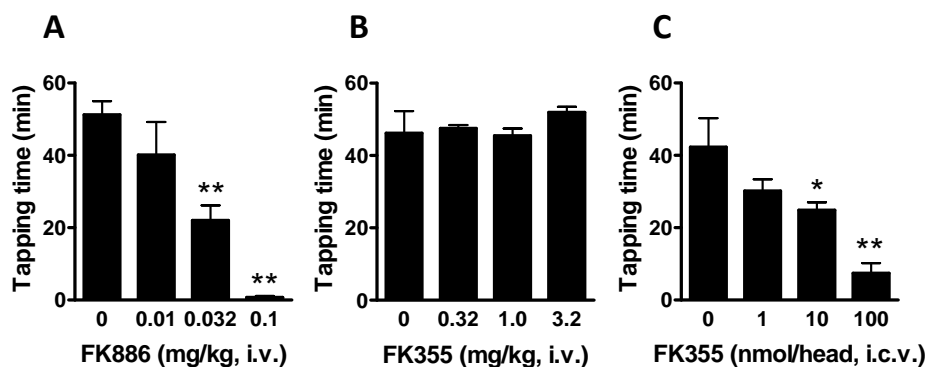


Fig. 3 Effect of intravenous administration of FK886 (A), FK355 (B) and intracerebroventricular (i.c.v.) administration of FK355 (C) on foot tapping behavior induced by GR73632 (10 pmol, i.c.v.) in gerbils. Drugs were administered 1 min before GR73632 injection. Values shown are tapping time during the 60-min observation period (mean ± SEM, n=5). *p<0.05, **p<0.01 vs. vehicle group by Dunnett's multiple comparison test.

Table 6 Tissue concentrations of radioactivity 5 min after intravenous administration of [¹⁴C]FK886 and [¹⁴C]FK355 in rats.

Compound	Dose (mg/kg)	Plasma (ng/mL)	Cerebrum (ng eq./g tissue)	Cerebrum/plasma ratio
FK886	3.2	1666 ± 82	1412 ± 153	0.83
FK355	1.0	740 ± 87	n.d.	-

Values are mean ± SEM of 3 rats per group. n.d., not detected.

匹の GR73632 により誘発される後肢タッピングに対する作用を検討した。

対照群のスナネズミでは、GR73632 投与後 45-50 分間にわたり持続的な後肢タッピング観察された。これに対し、FK886 (0.01–0.1 mg/kg) を GR73632 投与 1 分前に静脈内投与すると、後肢タッピング持続時間は用量依存的かつ 0.032 mg/kg 以上の用量において有意に短縮し、0.1 mg/kg 投与群においてほぼ完全に消失した (Fig. 3A)。一方、脳内移行性の無い FK355 は静脈内に投与しても 3.2 mg/kg までの用量で後肢タッピング持続時間を短縮しなかったが (Fig. 3B)、1–100 nmol/匹を脳室内に投与した時には用量依存的にこれを短縮した (Fig. 3C)。

3.4 ラット脳内移行性試験

化合物の放射標識体を用い、ラットにおける脳内移行性を検討した。 [¹⁴C]FK886 の 3.2 mg/kg 静脈内投与 5 分後における血漿中濃度は 1666 ng/mL であり、大脳中濃度は 1412 ng equivalents/g tissue であった (Table 6)。またこの時の大脳中濃度/血漿中濃度比は 0.83 であった。他方、 [¹⁴C]FK355 は 1.0 mg/kg 静脈内投与 5 分後の血漿中濃度が 740 ng/mL であったのに対し、大脳中濃度は検出限界以下であった。

4 考察

FK886 の NK₁ 受容体に対するサブスタンス P 結合阻害活性は 10⁻¹⁰ M オーダーであり、内因性リガンドであるサブスタンス P および FK888, FK355 と同等の強力な NK₁ 受容体結合活性を有していた。一方、FK886 のヒト NK₂ に対する親和性はヒト NK₁ 受容体に比べ 250 倍弱く、また NK₃ 受容体に対しては明らかな結合活性が見られなかったことから、FK886 の結合が NK₁ 受容体サブタイプ選択的であることが示された。さらに、FK886 は各種受容体、イオンチャネル、トランスポーターの 55 のリガンド結合部位に対して結合しないか、または結合しても NK₁ 受容体に比べ 1000 倍以上弱い親和性しか持たなかった。以上より、FK886 が NK₁ 受容体選択的な強力な結合活性を有する化合物であることが示された。

FK886 は NK₁ 受容体に対するサブスタンス P の結合に対し、最大結合数と結合親和性の両方を

低下させる insurmountable な阻害様式 (45, 46) を示した。この阻害様式は競合型拮抗薬において受容体との解離が極めて遅い場合にしばしば観察される。非ペプチド性 NK₁ 受容体拮抗薬は、NK₁ 受容体に対してアロステリックに結合する (47-49)。すなわち、リガンド結合部位が受容体の細胞外ループおよびその近辺にあるのに対し、非ペプチド性拮抗薬の結合ポケットは膜貫通ヘリックス (TM) 3~TM7 により形成される束状構造の内側に存在する。結合ポケットに結合した非ペプチド性拮抗薬は受容体の高次構造を変えることによりリガンド結合能を低下させると考えられることから、非競合型の阻害様式を取ることが予想されるが、興味深いことに FK886 のプロトタイプである FK888 はリガンド最大結合数を低下させない競合型の阻害様式を示すことが報告されている (21, 50, 51)。FK886 が insurmountable な阻害様式を示す理由を明らかにするには、さらに時間の要因を加えた検討が必要であると思われた。

ヒト以外の動物種の NK₁ 受容体に対する FK886 の親和性は、ラットにおいてヒトより 30 倍弱かったものの、イヌ、フェレット、スナネズミ、モルモットにおいてはヒトと同等であった。よって、FK886 の薬効評価に用いる動物種における FK886 の受容体親和性はヒトとの間に乖離がないことが示された。このような種選択性は、非ペプチド性 NK₁ 受容体拮抗薬のほぼ全てにおいて報告されている。結合試験を実施したヒト (NM_001058)、イヌ (NM_001012619)、フェレット (XM_004742277)、スナネズミ (52)、モルモット (NM_001172861)、ラット (NM_012667) の NK₁ 受容体のアミノ酸配列を比較すると、拮抗薬結合ポケットのある TM3~TM7 の配列中に種間で保存されていないアミノ酸残基が 6 個存在する (Table 7)。NK₁ 受容体においては、このような保存されていないアミノ酸残基が拮抗薬の結合に直接的あるいは間接的に関与する時に種選択性が表れることが知られており、最も詳しく調べられている CP-96345 と RP67580 の例においては、116 番目と 290 番目のアミノ酸残基の違いがこれら 2 化合物の種選択性に関係している (49, 53-55)。FK886 の場合、116 番目のアミノ酸残基がラット以外の動物ではバリンであったが、ラットではイソロイシンとなっていた。よって FK886 の種選択性の少なくとも一部は 116 番目のアミノ酸残基の違いにより説明されると考えられた。この点を明らかにするためにはさらなる検討が必要である。

In vitro 機能評価試験において、FK886 はヒト NK₁ 受容体発現細胞のサブスタンス P 刺激誘発イノシトールリン酸蓄積をその結合阻害活性とほぼ同等のポテンシイを以て抑制した。一方、FK886 は単独では NK₁ 受容体を刺激しなかったことから、FK886 は NK₁ 受容体に対し拮抗薬として作用

Table 7 Nonconserved residues in the transmembrane domains of NK₁ receptors.

Amino acid position (TM#)	Species					
	Human	Dog	Ferret	Gerbil	Guinea pig	Rat
116 (TM3)	Val	Val	Val	Val	Val	Ile
152 (TM4)	Cys	Cys	Cys	Phe	Cys	Phe
195 (TM5)	Val	Val	Val	Ala	Val	Ala
252 (TM6)	Val	Val	Ile	Val	Val	Val
266 (TM6)	Ile	Ile	Val	Val	Ile	Val
290 (TM7)	Ile	Ile	Val	Ile	Ile	Ser

することが示された。

脳内 NK₁ 受容体活性化は様々な疾患に関与する可能性が示唆されている。そこで FK886 の脳内 NK₁ 受容体における *in vivo* 阻害活性についてスナネズミ GR73632 誘発後肢タッピング試験を用い検討した。スナネズミの後肢タッピングは、スナネズミのストレス関連の情動を反映する反応と考えられているが (56, 57), 脳内の NK₁ 受容体 (44, 58) や NK₃ 受容体 (59) を直接刺激することによっても同様の反応が引き起こされる。序論で述べたように、タキキニン類の受容体選択性は高くなく、サブスタンス P の脳への直接注入は NK₁ 受容体と NK₃ 受容体の両方を活性化する可能性が考えられたため、本試験においては NK₁ 受容体選択的作動薬である GR73632 (60) による NK₁ 受容体刺激由来の後肢タッピングを観察した。脳内移行性のない NK₁ 受容体拮抗薬である FK355 は、静脈内投与では 3.2 mg/kg までの用量で後肢タッピングを抑制しなかったのに対し、脳室内投与では用量依存的に後肢タッピングを抑制した。よって、後肢タッピングの抑制には拮抗薬が脳内に到達することが必須であることが確認された。これに対し、FK886 は静脈内投与で GR73632 誘発後肢タッピングを用量依存的に抑制した。FK886 の作用は強力かつ持続的であり、0.1 mg/kg の静脈内投与でその後 60 分間の後肢タッピングがほぼ完全に抑制された。後肢タッピングは脳内の NK₁ 受容体の 40~90% が拮抗薬に占有されると完全に抑制される (61)。一方、イヌ、モルモットを用いたポジトロン断層法試験において、0.1 mg/kg の [¹¹C]FK886 の静脈内投与により、線条体 NK₁ 受容体の 90% が占有されることが報告されている (62)。これらのことから、FK886 投与によるスナネズミ後肢タッピングの抑制は、その抑制に十分な量の FK886 が投与後少なくとも約 60 分間脳中に存在し、脳内 NK₁ 受容体活性化を抑制した結果と考えられた。このように、スナネズミ GR73632 誘発後肢タッピング試験では、FK886 が優れた脳内移行性を有することおよび *in vivo* において脳内 NK₁ 受容体活性化を著明に抑制することが示された。

スナネズミ GR73632 誘発後肢タッピング試験においては、先の知見に加え FK886 の脳への移行が非常に速やかであることも示された。すなわち、FK886 (0.1 mg/kg) は GR73632 投与 1 分前の静脈内投与で GR73632 の脳室内投与により誘発される反応をほぼ完全に抑制した。ラット脳内移行性試験において、 [¹⁴C]FK886 は静脈内投与 5 分後に大脳で血漿中濃度に近い濃度が検出された。これは血中の FK886 が脳内へ非常に速やかかつ効率よく移行することを示しており、これは後肢タッピング試験において作用発現が速かったことと一致する。

以上のように、FK886 が強力な選択的 NK₁ 受容体拮抗薬であり、末梢投与で速やかにかつ効率よく脳内に移行する化合物であることが示された。よって FK886 は各種病態における中枢 NK₁ 受容体活性化由来の反応を末梢投与により抑制する可能性を有すると考えられた。

5 小括

本章において著者らは FK886 の薬理学的特徴について以下のことを明らかにした。

1. FK886 は NK₁ 受容体に対し選択的かつ強力に結合した
2. FK886 はヒト NK₁ 受容体に対して insurmountable な拮抗作用を示した
3. FK886 のイヌ、フェレット、スナネズミ、モルモット NK₁ 受容体に対する結合活性はヒト NK₁ 受容体結合活性と同等であった
4. FK886 はスナネズミにおいて脳内 NK₁ 受容体活性化による出現する後肢タッピング反応を末梢投与により速やかにかつ強力に抑制した
5. FK886 はラットにおいて血中から脳へ速やかかつ効率よく移行した

以上より、FK886 は強力な NK₁ 受容体選択的拮抗薬であり、また優れた脳内移行性を有することが示された。よって、FK886 が各種病態における中枢 NK₁ 受容体活性化由来の反応を末梢投与により抑制する可能性が示唆された。

第2章 FK886 のイヌシスプラチン誘発およびアポモルヒネ誘発嘔吐モデルに対する作用

1 緒言

嘔吐中枢への刺激は、消化管などにおける機械受容器あるいは化学受容器からの求心性インパルスに由来する末梢性のもの（例：シスプラチン，硫酸銅，放射線），化学受容器引き金帯（chemoreceptor trigger zone, CTZ）や大脳皮質，前庭器からの入力による中枢性のもの（例：ロペラミド，モルヒネ，アポモルヒネ），末梢および中枢からの入力によるもの（例：吐根）に分けられる。NK₁受容体拮抗薬はこれら様々な嘔吐刺激により引き起こされる嘔吐をいずれも著明に抑制することが報告されている（37, 63-66）。血液脳関門を透過しないNK₁拮抗薬は制吐作用を示さないことから，NK₁受容体活性化は脳内の嘔吐反応共通の神経伝達経路において重要な役割を果たしていると考えられる（67, 68）。

第2章では，FK886 の制吐作用としての有用性を明らかにするため，嘔吐誘発物質に対する感受性が最も高いイヌを用い，末梢性および中枢性刺激嘔吐モデルであるシスプラチン誘発およびアポモルヒネ誘発嘔吐に対する FK886 の作用を検討した。

2 方法

2.1 使用動物

雄雌ビーグル成犬（体重 7.3~9.5 kg）を北山ラベス（長野）より購入し，温度および湿度が管理された飼育室内で，7-19 時点灯条件下，1 週間以上予備飼育した。動物は個別飼育とし，1 日一回固形飼料（TC-1；マルハペットフード，東京）を与え，水を自由に摂取させた。嘔吐試験は飼育室とは異なる静かな部屋で行った。嘔吐反応はリズムカルな腹部の収縮を特徴とする反応と定義し，うち吐物を伴うものを嘔吐，吐物を伴わないものを空嘔吐とした。試験は全てアステラス製薬（株）動物実験委員会の承認を得て行われた。

2.2 シスプラチン誘発急性嘔吐

24 時間絶食したビーグル犬を試験当日の体重に基づいて群分けし（n=4）シスプラチン（3.2 mg/mL/kg）を静脈内に投与した。シスプラチン投与後 5 時間の嘔吐発現時間を記録し，嘔吐回数およびシスプラチン投与から初回嘔吐発現までの時間を求めた。シスプラチン投与 5 時間後までに嘔吐が観察されなかった個体の初回嘔吐発現時間は 300 分とした。FK886（0.1-1 mg/kg）はシスプラチン投与直前に静脈内投与あるいは経口投与した。対照群には同じ容量の溶媒を投与した。陽性対照としてシスプラチン誘発嘔吐モデルに対し有効性が報告されているセロトニン 5-HT₃ 拮抗薬，グラニセトロン（69, 70）の作用を検討した。グラニセトロンは薬効持続が短いため，シスプラチン投与の 30 分前と 90 分後の 2 回，0.001-0.1 mg/kg を静脈内に投与した。

2.3 アポモルヒネ誘発嘔吐反応

アポモルヒネ誘発嘔吐は個体毎の反応のばらつきが非常に大きく、少ない例数を用いた群間比較で有効性を判断することは難しい。しかしながら、過去の検討において、同一個体に2週間おきにアポモルヒネを投与した時の嘔吐反応に再現性があることが示されていることから(71)、試験は同一個体における薬物なし/ありの2回の試行を比較する形で実施した。尚、使用動物数削減のため溶媒対照群は置かなかった。

1回目の試行では、24時間絶食したビーグル犬にアポモルヒネ(0.1□mg/kg)を皮下投与して嘔吐反応を誘発し、アポモルヒネ投与から1時間の嘔吐および空嘔吐の回数を測定した。2週間の回復期間をおき、2回目の試行を実施した。2回目の試行では、FK886(0.032–1.6□mg/kg, n=2)をアポモルヒネ投与前の様々なタイミングで静脈内投与あるいは経口投与し、1回目の試行と同じ要領で嘔吐反応を誘発して、その後1時間の嘔吐および空嘔吐の回数を測定した。陰性対照としてグラニセトロン作用を検討した。グラニセトロンはアポモルヒネ誘発嘔吐を抑制しないため(69)、シスプラチン誘発急性嘔吐を完全に抑制する用量より10倍高い用量(1□mg/kg)をアポモルヒネ投与5分前に静脈内に投与した(n=2)。2例のうち少なくとも1例の嘔吐反応が完全に抑制された投与条件を有効とした。

2.4 イヌにおけるFK886の体内動態

雄性ビーグル犬を自由飲水で一晩絶食後、1 mg/kgのFK886を静脈内投与あるいは経口投与した(n=3)。水および飼料はそれぞれFK886投与4時間後および8時間後に再開した。得られた血漿サンプルを液相-液相抽出し、化合物原体の濃度を測定した。定量は逆相高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析(HPLC/MS/MS)法を用いた。本分析法におけるFK886の定量限界は0.5□ng/mLであった。薬物速度論的パラメーターは個々の動物の血漿中濃度からモデル非依存的薬物動態解析ソフトウェアMOMENT(EXCEL)により算出した(72)。すなわち、最高血中濃度(C_{max})および最高血中濃度到達時間(T_{max})は測定値から直接求め、消失半減期($t_{1/2}$)は最終消失相から3点を用いて直線回帰し、得られた傾き(β)を用いて $\ln 2/\beta$ より算出した。血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC)は、台形公式法により求めた最終測定可能時点(t)までの AUC_{0-t} に、tにおける推定血漿中濃度(C_t)/ β を加えて無限時間外挿を施して算出した。全身クリアランス(CL_{tot} および CL/F)は投与量をAUCで除して算出した。定常状態における分布容積(V_{dss})はAUCと同様の方法で無限時間外挿を施した平均滞留時間(MRT)と CL_{tot} から算出した。生物学的利用率(F)は静脈内および経口投与後のAUCを比較することにより求めた。

2.5 使用薬物

FK886およびグラニセトロン塩酸塩はアステラス製薬化学研究所にて合成された。シスプラチンおよびアポモルヒネはSigma-Aldrich(St. Louis, MO, U.S.A.)より購入した。FK886は静脈内投与においては生理食塩水に、経口投与においては蒸留水に溶解し、それぞれ0.5 mL/kg, 1 mL/kgを投与した。グラニセトロンおよびアポモルヒネは生理食塩水に溶解し0.5□mL/kgを投与した。シスプラチンは予め70°Cに温めた生理食塩水に溶解し、投与直前に40°Cまで冷却して1□mL/kgを投与した。

2.6 データ解析

データは、特に記載するもの以外、平均値±標準誤差で表した。嘔吐反応の回数や反応潜時の薬物投与群と対照群との比較は一元配置分散分析後 Dunnett 型多重比較検定により行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

3 結果

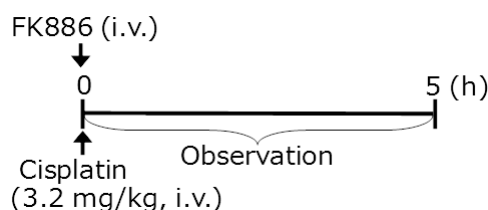
3.1 シスプラチン誘発急性嘔吐

シスプラチン (3.2 mg/kg) を静脈内に投与することにより、再現良く嘔吐が誘発された。溶媒対照群における5時間の観察時間内の嘔吐回数はFK886静脈内投与試験において 13.8 ± 1.0 回 (最小値-最大値: 11-19回), FK886経口投与試験において 14.3 ± 1.7 回 (同: 11-18回), グラニセトロン静脈内投与試験において 18.0 ± 2.5 回 (同: 12-19回) であった。また、初回嘔吐発現時間はFK886静脈内投与試験において 85.3 ± 6.9 分 (最小値-最大値: 65-96分), FK886経口投与試験において 92.3 ± 6.6 分 (同: 74-102分), グラニセトロン静脈内投与試験において 103.8 ± 5.2 分 (同: 96-133分) であった。

FK886をシスプラチン投与直前に静脈内に投与することにより、嘔吐回数は用量依存的かつ0.32 mg/kg以上の用量で有意に減少した (Table 8)。0.32 mg/kg投与群においては4例中1例、また1 mg/kg投与群においては4例中2例で嘔吐が完全に抑制された。初回嘔吐発現時間は1 mg/kg投与群において有意に延長した。

FK886をシスプラチン投与直前に経口投与することにより、嘔吐回数は静脈内投与とほぼ同等の用量依存性を以て減少した (Table 9)。嘔吐回数の減少は0.32 mg/kg以上の用量で有意であり、

Table 8 Effect of intravenously administered FK886 on cisplatin-induced emesis in dogs.



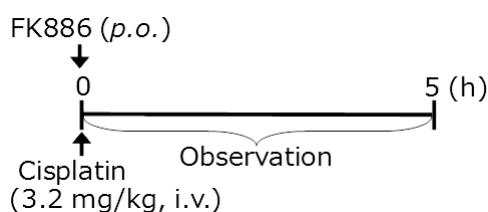
FK886 (mg/kg, i.v.)	Protected/tested	Vomits		Latency (min)
		Number	% inhibition	
0	0/4	13.8 ± 1.0	0	85.3 ± 6.9
0.1	0/4	9.8 ± 3.0	29	107.3 ± 6.2
0.32	1/4	$3.0 \pm 1.7^{**}$	78	175.8 ± 41.8
1	2/4	$0.5 \pm 0.3^{**}$	96	$236.3 \pm 36.9^{**}$

Values are mean \pm S.E.M. ** $p < 0.01$ vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

また 1 mg/kg 投与群において 4 例中 2 例で嘔吐が完全に抑制された。初回嘔吐発現時間は 1 mg/kg 投与群において有意に延長した。

5-HT₃拮抗薬のグラニセトロンをシスプラチン投与 30 分前および 90 分後に静脈内投与すると、嘔吐回数は用量依存的かつ 0.01 mg/kg 以上の用量で有意に減少した (Table 10)。0.1 mg/kg 投与群においては全ての個体で嘔吐が完全に抑制された。初回嘔吐発現時間は用量依存的かつ 0.01 mg/kg 以上の用量で有意に延長した。

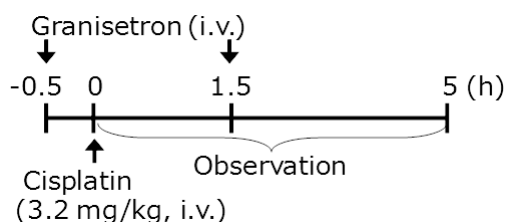
Table 9 Effect of orally administered FK886 on cisplatin-induced emesis in dogs.



FK886 (mg/kg, p.o.)	Protected/tested	Vomits		Latency (min)
		Number	% inhibition	
0	0/4	14.3 ± 1.7	0	92.3 ± 6.6
0.1	0/4	12.3 ± 1.4	14	84.8 ± 3.2
0.32	0/4	5.5 ± 1.2**	62	97.3 ± 9.5
1	2/4	0.8 ± 0.5**	94	223.3 ± 44.8**

Values are mean ± S.E.M. ** p<0.01 vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

Table 10 Effect of granisetron on cisplatin-induced emesis in dogs.



Granisetron (mg/kg, i.v.)	Protected/tested	Vomits		Latency (min)
		Number	% inhibition	
2 × 0	0/5	18.0 ± 2.5	0	103.8 ± 5.2
2 × 0.001	0/3	10.7 ± 0.9	44	121.0 ± 5.5
2 × 0.01	0/3	7.0 ± 0.6*	61	161.0 ± 8.5***
2 × 0.1	2/2	0 ± 0**	100	300 ± 0***

Values are mean ± S.E.M. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

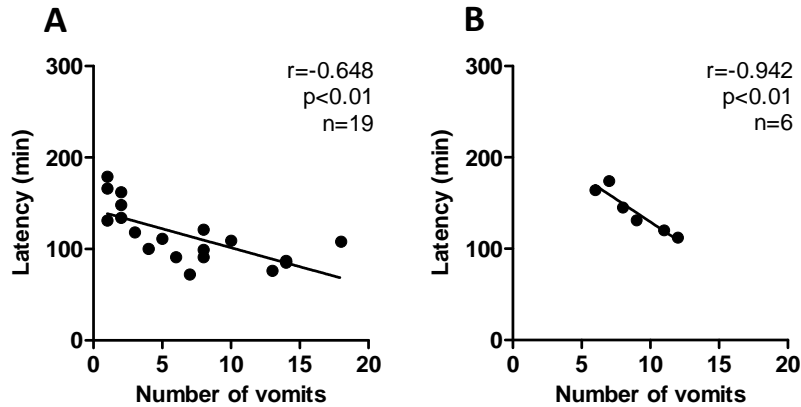


Fig. 4 Relationship between the number of vomits and the latency in cisplatin-induced emesis in dogs that were not completely protected from emesis by FK886 (A) or granisetron (B).

FK886 が初回嘔吐発現時間を直接的に延長するか否かを明らかにするため、嘔吐が完全抑制されなかった個体における嘔吐回数と初回嘔吐発現時間の関係を調べた。FK886 投与動物 (Fig. 4A) およびグラニセトロン投与動物 (Fig. 4B) の両者において有意な負の相関 (それぞれ $r=-0.648$, $p<0.01$ および $r=-0.942$, $p<0.01$) が認められた。

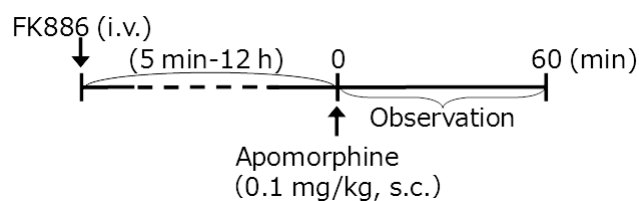
3.2 アポモルヒネ誘発嘔吐反応

FK886 の用量と作用持続時間との関係を調べる目的で、FK886 の静脈内投与あるいは経口投与後、様々な時間においてアポモルヒネを投与し、誘発される嘔吐反応に対する FK886 の作用を検討した。薬効は薬物なし/ありの 2 回の試行の比較で判定した。

薬物なし (対照) の試行においてアポモルヒネはすべての個体に嘔吐反応を誘発した。60 分の観察時間内の嘔吐反応 (嘔吐+空嘔吐) は 75.7 ± 4.8 回 (最小値-最大値: 43-143 回) であり、初回の嘔吐または空嘔吐の発現時間は 4.5 ± 0.3 分 (同: 2.5-8.3 分) であった ($n=32$)。

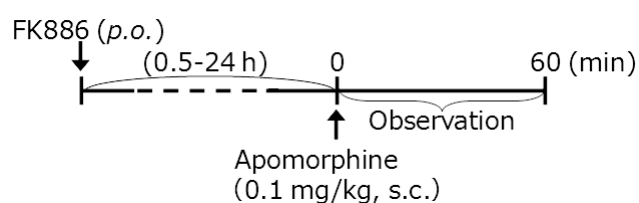
FK886 を静脈内投与した時、 0.1 mg/kg でアポモルヒネ投与 2 時間前、 0.32 mg/kg では同じく 4 時間前の投与で、2 例中 1 例の個体で嘔吐反応が完全に抑制された (Table 11)。グラニセトロンは、シスプラチン誘発急性嘔吐を完全に抑制する用量より 10 倍高い 1 mg/kg をアポモルヒネ投与 5 分前に静脈内投与したが、嘔吐反応は抑制されなかった (Table 11)。FK886 を経口投与した時、 0.32 mg/kg で 0.5 時間前、 1 mg/kg で 0.5~4 時間前、 1.6 mg/kg では 12 時間前の投与で、2 例中 1 例以上の個体で嘔吐が完全に抑制された (Table 12)。

Table 11 Effects of intravenously administered FK886 and granisetron on apomorphine-induced emetic responses in dogs.



Treatment (mg/kg)	Pretreatment interval (h)	Control		Treated	
		Protected /tested	Mean episodes	Protected /tested	Mean episodes
FK886, i.v.					
0.032	0.083	0/2	85.5	0/2	49.5
0.1	2	0/2	58.0	1/2	4.5
0.1	4	0/2	63.0	0/2	31.5
0.32	4	0/2	90.5	1/2	15.0
0.32	8	0/2	85.5	0/2	20.0
0.32	12	0/2	83.5	0/2	45.5
Granisetron, i.v.					
1	0.083	0/2	71.0	0/2	105.0

Table 12 Effect of orally administered FK886 on apomorphine-induced emetic responses in dogs.



FK886 (mg/kg, p.o.)	Pretreatment interval (h)	Control		Treated	
		Protected /tested	Mean episodes	Protected /tested	Mean episodes
0.1	0.5	0/2	98.0	0/2	60.0
0.32	0.5	0/2	78.0	1/2	5.0
0.32	4	0/2	84.0	0/2	21.0
0.32	12	0/2	54.5	0/2	44.0
1	0.5	0/2	76.5	2/2	0
1	4	0/2	54.0	1/2	4.5
1	12	0/2	58.0	0/2	18.5
1.6	12	0/2	71.0	2/2	0
1.6	24	0/2	106.0	0/2	28.5

3.3 イヌにおける FK886 の体内動態

1 mg/kg の FK886 を静脈内あるいは経口投与した時の血漿中濃度を Fig. 5 に示す (平均±標準偏差)。静脈内投与後の血漿中濃度は投与後 5 分で 1137.9 ng/mL を示した後、見かけ上二相性に消失した (Fig. 5)。最終消失相における半減期は 2.8 時間、AUC は 2659 ng·h/mL、全身クリアランスは 0.378 L/h/kg であった (Table 13)。経口投与後の血中濃度は投与後 30 分で 469.5 ng/mL に達し、静脈内投与後の血漿中濃度とほぼ同等となった。経口投与後 4 時間以降は 4.3 時間の半減期で消失した。AUC は 2239 ng·h/mL であり、生物学的利用率 (F) は 81% であった。

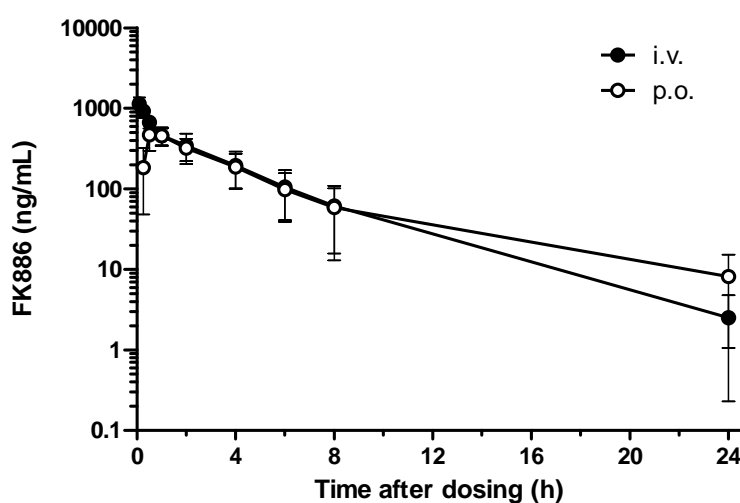


Fig. 5 Plasma concentrations of FK886 after intravenous (closed circles) or oral (open circles) administration at a dose of 1 mg/kg. Each value represents the mean ± S.D. (n=3).

Table 13 Pharmacokinetic parameters after single intravenous and oral administrations of FK886 at 1mg/kg to male dogs.

Route	C ₀ (ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	t _{1/2} (h)	AUC (ng·h/mL)	CL _{tot} (L/h/kg)	CL/F (L/h/kg)	F
i.v.	1266±285	-	-	2.8±1.2	2659±1103	0.378±0.202	-	-
p.o.	-	488±141	0.7±0.3	4.3±2.5	2239±1129	-	0.494±0.337	81

Values are mean ± S.D. (n=3).

4 考察

本検討において、5-HT₃受容体拮抗薬であるグラニセトロンは、シスプラチン誘発嘔吐を抑制し、アポモルヒネ誘発嘔吐反応を抑制しなかった。シスプラチン誘発嘔吐は、シスプラチンが腸管のエンテロクロマフィン細胞を刺激することにより遊離したセロトニンが迷走神経求心性線維終末の5-HT₃受容体を活性化し、生じた求心性インパルスが嘔吐中枢を刺激することにより誘発される(29,30)。これに対し、5-HT₃受容体拮抗薬はこの経路を遮断することにより嘔吐を抑制したと考えられた。一方、アポモルヒネ誘発嘔吐は、アポモルヒネがCTZを直接刺激することにより誘発される(73)。従って本モデルにおいては5-HT₃受容体活性化の寄与が少ないため、5-HT₃受容体拮抗薬の有効性が低かったものと考えられた。

一方FK886はシスプラチン誘発およびアポモルヒネ誘発嘔吐とともに強力に抑制した。シスプラチン、アポモルヒネを含む種々の嘔吐刺激は、いずれも脳幹部の迷走神経背側複合体(dorsal vagal complex)および中枢パターン発生器領域(central pattern generator area)の活動性を上昇させる(74-76)。このためこれらの部位は嘔吐のメディエーター領域と考えられているが、これらの部位がいずれもNK₁受容体発現神経線維による密な神経支配を受けることが組織化学的解析により示されている(39,42,77)。迷走神経背側複合体には、CTZのある最後野(area postrema)、消化管からの入力を受ける孤束核(nucleus tractus solitarii)および平滑筋を支配する迷走神経背側核(dorsal motor nucleus of the vagus nerve)といった嘔吐反応に密接に関わりを持つ領域が存在する。このことからNK₁受容体活性化が嘔吐反応に共通の経路において重要な役割を果たしていると考えられた。また、ヒメコミミトガリネズミ(*Cryptotis parva*)において、シスプラチンが脳幹におけるNK₁受容体タンパクの過剰発現を引き起こすこと、およびそれが急性および遅発性嘔吐における嘔吐の頻度とよく相関することが報告されており(78)、このことも、嘔吐反応においてNK₁受容体活性化の寄与が重要であることを示唆している。FK886がシスプラチン誘発およびアポモルヒネ誘発嘔吐を抑制したことから、FK886が様々な刺激による嘔吐に対し制吐作用を示す可能性が示された。

FK886はシスプラチン誘発急性嘔吐の初回嘔吐発現時間を用量依存的かつ有意に延長した。興味深いことに、FK886投与群の嘔吐が完全に抑制されなかった個体において初回嘔吐発現時間と嘔吐回数との間に有意な負の相関が観察され、FK886が直接的な初回嘔吐発現時間延長作用を有する可能性が示された。しかしながら、他のNK₁受容体拮抗薬においてイヌおよびフェレットにおけるシスプラチン誘発嘔吐の初回嘔吐発現時間を直接には延長しないことが報告されている

(37,65,66)ことから、FK886における初回嘔吐発現時間延長作用は、NK₁受容体活性化抑制以外のメカニズムに由来する可能性が考えられた。シスプラチン誘発嘔吐の初回嘔吐発現時間を直接に延長する薬物として、5-HT₃受容体拮抗薬が知られている(70,79)。しかしながらFK886は結合試験においてセロトニン結合部位に対する明らかな親和性を示さず、従ってこの初回嘔吐発現時間延長作用は5-HT₃受容体を介したものではないと考えられた。FK886の初回嘔吐発現時間延長作用のメカニズムを明らかにするにはさらなる検討が必要である。

FK886の経口投与後の作用発現は速やかであり、初回嘔吐発現時間の短いアポモルヒネ誘発嘔吐を、アポモルヒネ投与0.5時間前の0.32 mg/kg以上の用量を経口投与することにより、ほぼ完

全に抑制した。また、FK886 の作用は持続的であり、アポモルヒネ投与 12 時間前に 1.6 mg/kg を経口投与することで、嘔吐反応を完全に抑制した。

イヌにおける薬物動態試験において、経口投与後の FK886 の血漿中濃度は投与 30 分後には静脈内投与による血漿中濃度とほぼ同等となった。よって FK886 の吸収が速やかであることが示された。第 1 章で述べたように、FK886 はラットにおいて静脈内投与 5 分後の大脳でその時の血漿中濃度に近い濃度で検出されており、血中から脳への移行性に優れた化合物であることが示唆されている。これらより、FK886 は経口投与後速やかに脳内へ移行し、短時間のうちにアポモルヒネ誘発嘔吐に対する制吐作用を発現したと考えられた。

本検討において、FK886 が末梢および中枢刺激性嘔吐に対して制吐作用を示したことから、FK886 が制吐薬として有用であることが示された。また、経口投与後の作用発現が早いという FK886 の特徴は制吐薬として魅力的であると思われた。

5 小括

本章において、著者らは FK886 の制吐薬としての有用性を明らかにするため、イヌシスプラチン誘発およびアポモルヒネ誘発嘔吐に対する作用を検討し、以下のことを明らかにした。

1. FK886 はイヌにおいて末梢刺激性嘔吐のシスプラチン誘発嘔吐を抑制した
2. FK886 はイヌにおいて中枢刺激性嘔吐のアポモルヒネ誘発嘔吐を抑制した
3. FK886 の経口投与後の作用発現は早く、またその作用は持続的であった
4. FK886 の経口投与後の吸収は速かった

FK886 が末梢および中枢刺激性嘔吐のいずれに対しても制吐作用を示したことから、FK886 が様々な刺激による嘔吐に対して制吐作用を示す可能性が示された。また、FK886 の経口投与後の作用発現が早いことが示された。

第3章 FK886 のフェレットシスプラチン誘発急性および遅延性嘔吐に対する作用

1 緒言

がん化学療法による悪心・嘔吐 (CINV) は、がん化学療法において高頻度に発現する副作用である。序論で述べたように CINV は化学療法剤投与直後に現れる急性のものと、投与 24 時間前後から数日間に渡り持続する遅発性のものとに分けられる。動物において中枢作用型 NK₁ 受容体拮抗薬は、シスプラチン誘発急性および遅発性嘔吐とともに抑制することが報告されている (35-38)。

本章では、FK886 の CINV への適応可能性を明らかにするため、フェレットシスプラチン誘発嘔吐モデル (80) における急性ならびに遅発性嘔吐に対する作用を検討した。フェレットシスプラチン誘発嘔吐は、これまで様々な制吐薬の前臨床評価に用いられてきたモデルである。本嘔吐モデルの臨床予見性に関するシステムティックレビューでは、10 mg/kg シスプラチン投与による急性嘔吐モデルは臨床におけるシスプラチン誘発急性嘔吐の評価系として妥当、また、5 mg/kg シスプラチン投与による遅発性嘔吐モデルは急性嘔吐モデルほどの妥当性はないが、シスプラチン誘発遅発性嘔吐の評価に最も多く用いられたモデルであるとされている (81)。

これに加え、本章では、フェレットにおける FK886 の制吐作用の作用点が脳内にあることを示すため、脳幹部 NK₁ 受容体の直接刺激あるいは硫酸銅により誘発される嘔吐に対する FK886 の末梢投与による作用を検討した。

2 方法

2.1 使用動物

体重 0.9-1.5 kg の雄性フェレットを Marshall Farms (North Rose, NY, USA) より購入し、温度および湿度が管理された飼育室内において 7-19 時点灯条件下で 1 週間以上予備飼育した。フェレットは個別飼育とし、固形飼料 (70 g/day, High Density Ferret Diet, PMI Feeds, St. Louis, MO, USA) および水を自由に摂取させた。嘔吐試験は飼育室とは異なる静かな部屋で行った。嘔吐反応は、リズムカルな腹部の収縮を特徴とする反応と定義し、うち吐物を伴うものを嘔吐、伴わないものを空嘔吐とした。試験は全てアステラス製薬 (株) 動物実験委員会の承認を得て行われた。

2.2 シスプラチン誘発急性嘔吐

フェレットは体重に基づいて群分けした (n=4)。シスプラチン (10 mg/kg) を静脈内に投与した後直ちに個別観察ケージに移し、その後 4 時間の行動を録画した。録画を解析し、各個体の嘔吐・空嘔吐回数の合計と初回嘔吐反応発現時間を計測した (82)。FK886 (0.1-1 mg/kg) は、シスプラチン投与の 5 分前に静脈内に投与した。また、陽性対照として、グラニセトロン (0.01-0.1 mg/kg) の作用を同様のプロトコールにて検討した。

経口投与の試験では、FK886 (0.32-3.2 mg/kg) およびアプレピタント (0.32-3.2 mg/kg) を経口投与した 8 時間後にシスプラチンを投与し、その後 4 時間の行動を録画、解析した。

いずれの試験でも、対照群には同じ容量の溶媒を投与した。嘔吐回数が対照群に対し統計的に有意に少ない、もしくは4例中2例以上で嘔吐反応の完全な抑制が見られた用量を有効と判断した。また、シスプラチン投与4時間後までに嘔吐、空嘔吐のいずれも観察されなかった個体の初回嘔吐反応発現時間は240分とした。

2.3 シスプラチン誘発遅発性嘔吐

フェレットは体重に基づいて群分けした (n=4)。朝8時にシスプラチン (5 mg/kg) を腹腔内投与し、個別観察ケージに移した後3日間の行動を昼夜連続監視カメラを用いて録画した。試験中の飼料 (70 g/day) および水の摂取は自由とした。録画を解析し、各個体の嘔吐および空嘔吐回数を計測した (82)。

予防的プロトコールでは、FK886 (1.6-5 mg/kg) をシスプラチン投与の1分前、および12時間後より12時間間隔で5回、経口投与した。シスプラチン投与後24-72時間の嘔吐反応を遅発性嘔吐とした。

治療的プロトコールでは、FK886 (3.2 mg/kg) およびアプレピタント (1 mg/kg) をシスプラチン投与36時間後より12時間間隔で3回経口投与し、シスプラチン投与後36-72時間の嘔吐反応の回数を計測した。また、陰性対照として、グラニセトロン[®]の作用を検討した。3.2 mg/kgのグラニセトロンを静脈内に投与することによりシスプラチン誘発急性嘔吐が8時間以上抑制されたことから (83)、グラニセトロン (3.2 mg/kg) の投与間隔は8時間とし、シスプラチン投与32時間後より5回、静脈内に投与し、シスプラチン投与後32-72時間の嘔吐反応の回数を計測した。

いずれの試験でも、対照群には同じ容量の溶媒を投与した。

2.4 GR73632 誘発嘔吐反応

脳幹部へのガイドカニューレの装着はHigginsらの報告に準じて行った (84)。ペントバルビタール (35 mg/kg, 腹腔内投与) 麻酔下、頭蓋骨正中線に沿って頭蓋骨後端より2 mm手前に小穴をあけ、ステンレスのガイドカニューレ (23 ゲージ, 長さ 13 mm) を頭蓋骨表面より垂直に9 mmの深さまで差し込み、歯科用セメントおよびネジを用いて固定した。術後、抗生物質 (50 mg セファメジン, アステラス製薬) を筋肉内に投与し、飼育ケージ内で1週間以上回復させた。

本試験の前にガイドカニューレの位置確認を兼ねた群分け試験を実施した。マイクロシリンジに29ゲージ注射針を装着し、ガイドカニューレを通して針先がカニューレの端から7 mm出る位置まで差し込み、第4脳室内にGR73632 (0.1 µg/匹) を注入した。30秒後に針を抜き、直ちに観察ケージに移してその後60分間の嘔吐および空嘔吐の回数および初回嘔吐発現時間を計測した。群分け試験で嘔吐反応が誘発されなかったフェレットを除外後、1週間の回復期間をおき薬物評価を実施した。フェレットを群分け試験時の嘔吐回数に基づいて群分け (n=4) し、FK886 (0.1 mg/kg) を静脈内投与した。1分後、群分け試験と同様にGR73632を脳室内投与し、その後60分間の嘔吐および空嘔吐の回数および初回嘔吐発現時間を計測した。実験後、ペントバルビタール深麻酔下に各フェレットの第4脳室内にエバンスブルーを投与し、屠殺して針先位置の確認を行った。

2.5 硫酸銅誘発嘔吐

一晩絶食したフェレットに 40 mg/kg の硫酸銅を経口投与し、その後 30 分間の嘔吐および空嘔吐の回数ならびに初回嘔吐発現時間を計測した。FK886 (0.032-0.32 mg/kg) あるいは溶媒は硫酸銅投与の 5 分前に静脈内に投与した。また、陰性対照として、グラニセトロンの作用を検討した。グラニセトロンは硫酸銅誘発嘔吐に無効であることが報告されているため、シスプラチン誘発急性嘔吐を完全に抑制する用量の 30 倍 (3.2 mg/kg) を硫酸銅投与の 5 分前に静脈内に投与した。

2.6 フェレットにおける FK886 の体内動態

フェレット (n=3) に 3.2 mg/kg の FK886 を静脈内投与あるいは経口投与し、経時的に採血した。得られた血漿サンプルを液相-液相抽出し、化合物原体の濃度を測定した。定量は HPLC/MS/MS 法を用いた。本分析法における FK886 の定量限界は 1 ng/mL であった。薬物速度論的パラメータは、第 2 章第 1 節 2.4 におけるイヌの薬物速度論的パラメータ算出と同じ方法で、個々の動物の血漿中濃度からモデル非依存的薬物動態解析ソフトウェア MOMENT (EXCEL) により算出した (72)。

2.5 使用薬物

FK886, グラニセトロン塩酸塩, シスプラチン, GR73632 の入手法は第 1 章～第 2 章第 1 節に記した通りである。アプレピタントはアステラス製薬化学研究所にて合成された。また、硫酸銅は和光純薬 (大阪) より購入した。FK886 は静脈内投与においては生理食塩水に、経口投与においては蒸留水に溶解し、それぞれ 0.25 mL/kg, 2 mL/kg で投与した。アプレピタントは 0.5%メチルセルローズに懸濁し、2 mL/kg で経口投与した。グラニセトロンは生理食塩水に溶解し 0.25 mL/kg で静脈内投与した。硫酸銅は蒸留水に溶解し、2 mL/kg で経口投与した。GR73632 は生理食塩水に溶解し、2 μL/匹で脳室内投与した。シスプラチンは予め 70°C に温めた生理食塩水に溶解し、投与直前に 40°C まで冷却して 2 mL/kg で静脈内にあるいは 5 mL/kg で腹腔内に投与した。

2.6 データ解析

データは、特に記載するもの以外、平均値±標準誤差で表した。嘔吐反応の回数や初回嘔吐発現時間における対照群と薬物投与群との比較は一元配置分散分析後 Dunnett 型多重比較検定により行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

3 結果

3.1 シスプラチン誘発急性嘔吐

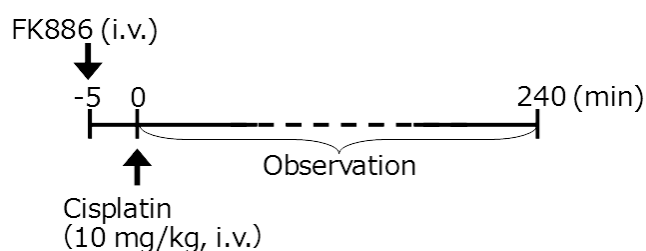
シスプラチンの投与によりフェレットに嘔吐が再現性良く誘発された。溶媒投与群 (n=4) における嘔吐反応の回数は FK886 静脈内投与試験で 92.5 ± 13.9 回 (最小値-最大値: 53-118 回), グラニセトロン静脈内投与試験で 135.8 ± 55.8 回 (同: 69-302 回), FK886 経口投与試験で 119.5 ± 39.1 回 (同: 17-193 回), アプレピタント経口投与試験で 137.0 ± 16.1 回 (同: 106-173 回) であった。また, 初回応答反応発現時間は FK886 静脈内投与試験で 83.6 ± 9.4 分 (最小値-最大値: 56-96 分), グラニセトロン静脈内投与試験で 88.5 ± 7.4 分 (同: 69-102 分), FK886 経口投与試験で 69.8 ± 10.5 分 (同: 50-72 分) アプレピタント経口投与試験で 60.8 ± 4.4 分 (同: 49-68 分) であった。

FK886 (0.1-1 mg/kg) のシスプラチン投与 5 分前の静脈内投与により嘔吐反応数は用量依存的に減少した (Table 14)。嘔吐反応数の減少は 0.32 mg/kg 以上で統計的に有意であり, また, 1 mg/kg 投与群において 4 例中 1 例で嘔吐反応が完全に抑制された。グラニセトロン (0.01-0.1 mg/kg) は静脈内投与において用量依存的にかつ有意に嘔吐反応の回数を減少させた (Table 15)。0.01 mg/kg および 0.032 mg/kg 投与群において 4 例中 1 例, また 0.1 mg/kg 投与群において 4 例全例で嘔吐反応が完全に抑制された。

次に FK886 の遅発性嘔吐に対する作用との比較を目的として, FK886 が経口投与で急性嘔吐を 12 時間抑制する用量を検討した (Table 16)。シスプラチン投与 8 時間前に FK886 (0.32-3.2 mg/kg) を経口投与することにより, 4 時間の観察時間内の嘔吐反応の回数は用量依存的に減少した。この減少は統計的に有意とはならなかったが, 3.2 mg/kg 投与群において 4 例中 2 例で嘔吐反応が完全に抑制されたことから, FK886 による嘔吐抑制は 3.2 mg/kg より発現したと考えられた。さらに FK886 との薬効比較を目的に, 臨床で用いられている NK_1 受容体拮抗薬であるアプレピタントを同様のプロトコールにて評価した。アプレピタント (0.32-3.2 mg/kg) は嘔吐反応の回数を用量依存的かつ有意に減少させた (Table 17)。1 mg/kg および 3.2 mg/kg 投与群において 4 例中 1 例で嘔吐反応が完全に抑制された。

FK886 はフェレットにおいては嘔吐が完全抑制されなかった個体に対し初回嘔吐発現時間を延長しなかった。

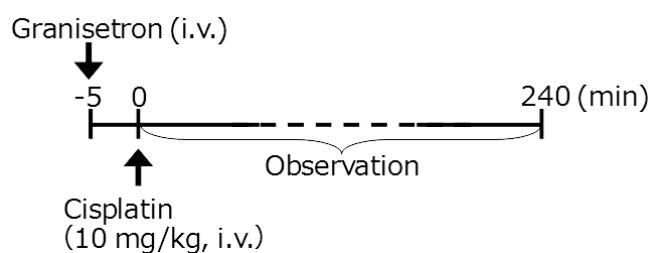
Table 14 Effect of intravenously administered FK886 on cisplatin-induced acute emesis in ferrets.



FK886 (mg/kg, i.v.)	Protected/tested	Retching + Vomiting		Latency (min)
		Number	% Inhibition	
0	0/4	92.5 ± 13.9	0	83.6 ± 9.4
0.1	0/4	83.3 ± 11.7	10	90.6 ± 15.9
0.32	0/4	34.5 ± 15.2*	62	95.5 ± 10.4
1	1/4	6.0 ± 3.5**	94	149.6 ± 30.9

Values are mean ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01 vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

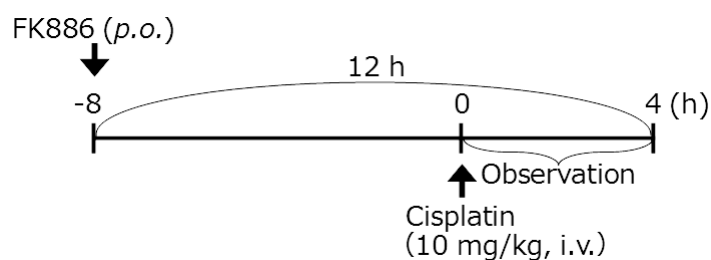
Table 15 Effect of granisetron on cisplatin-induced acute emesis in ferrets.



Granisetron (mg/kg, i.v.)	Protected/tested	Retching + Vomiting		Latency (min)
		Number	% Inhibition	
0	0/4	135.8 ± 55.8	0	88.5 ± 7.4
0.01	1/4	71.3 ± 26.9	48	152.3 ± 39.5
0.032	1/4	62.0 ± 26.4	54	137.1 ± 34.8
0.1	4/4	0 ± 0*	100	240 ± 0**

Values are mean ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01 vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

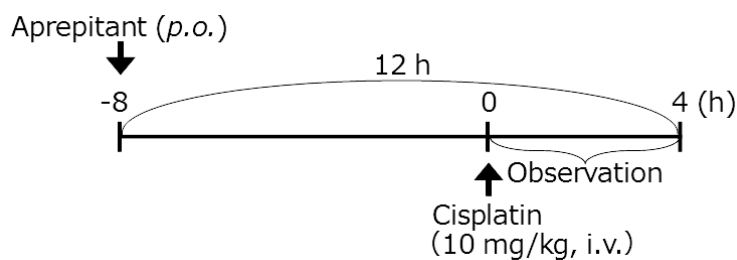
Table 16 Effect of orally administered FK886 on cisplatin-induced acute emesis in ferrets.



FK886 (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Protected/tested	Retching + Vomiting		Latency (min)
		Number	% Inhibition	
0	0/4	119.5 ± 39.1	0	69.8 ± 10.5
0.32	0/4	134.5 ± 35.9	-13	67.2 ± 10.0
1	1/4	75.8 ± 44.2	37	117.1 ± 42.1
3.2	2/4	21.8 ± 12.6	82	158.1 ± 47.3

Values are mean ± S.E.M. Statistically significant difference vs. control group was not observed in all groups by Dunnett's multiple comparison test.

Table 17 Effect of orally administered aprepitant on cisplatin-induced acute emesis in ferrets.



Aprepitant (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Protected/tested	Retching + Vomiting		Latency (min)
		Number	% Inhibition	
0	0/4	137.0 ± 16.1	0	60.8 ± 4.4
0.32	0/4	79.8 ± 10.3**	42	76.1 ± 6.4
1	1/4	21.3 ± 9.5**	85	126.1 ± 38.5
3.2	1/4	5.3 ± 3.6**	96	127.5 ± 37.9

Values are mean ± S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

3.2 シスプラチン誘発遅発性嘔吐（予防投与）

5 mg/kg のシスプラチンを腹腔内に投与すると、その後3日間にわたり嘔吐反応が観察された。嘔吐反応の回数は二相性に推移し、シスプラチン投与48時間前後をピークとする遅発性嘔吐が観察された。溶媒投与群における嘔吐反応回数は急性嘔吐（0-24時間）で 53.3 ± 31.4 回（最小値-

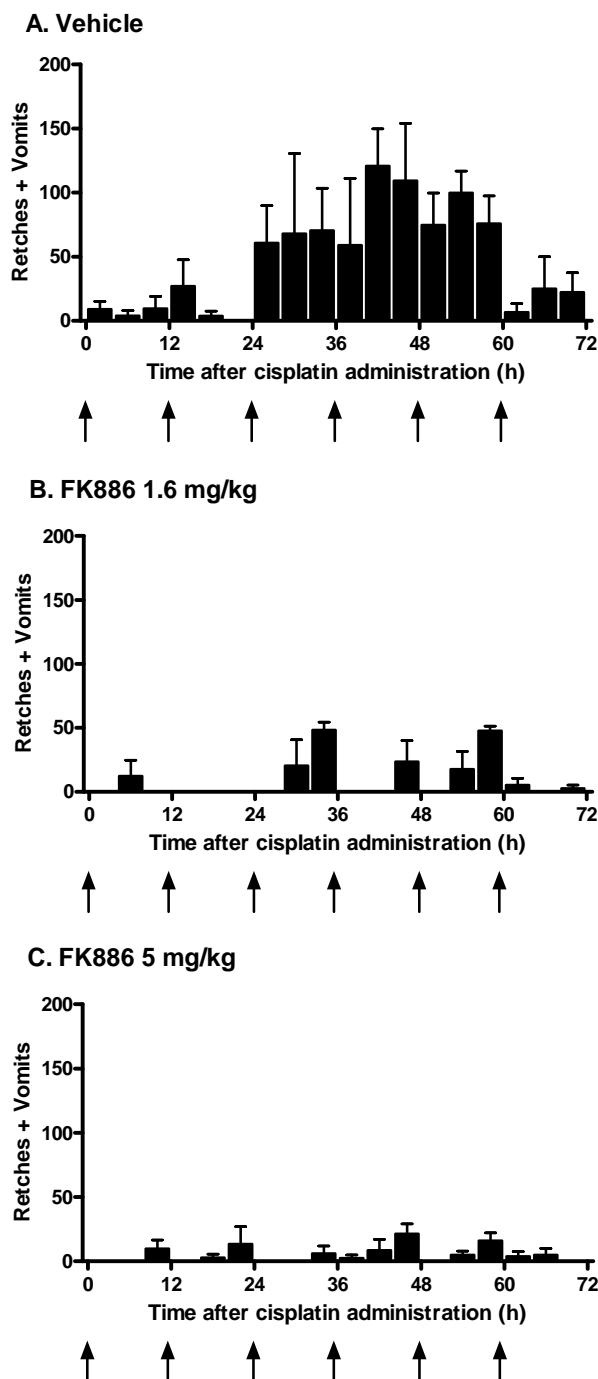
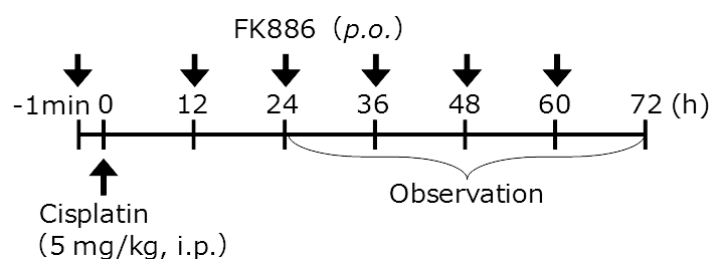


Fig. 6 Effect of oral FK886 on cisplatin-induced delayed emesis in a prophylactic protocol in ferrets. Vehicle (A) or FK886 at 1.6 (B) or 5 mg/kg (C) was administered orally 1 min before and 12, 24, 36, 48 and 60 h after cisplatin (5 mg/kg, i.p.). Arrows indicate the administration of vehicle or FK886. Results are shown as the mean \pm S.E.M. (n=4) of emetic episodes in 4-h time bins.

最大値：0-14回), 遅発性嘔吐 (24-72時間) で 792.5 ± 134.0 回 (同: 452-1055回)であった (n=4)。

この嘔吐反応に対し, FK886 は 1.6~5 mg/kg の経口投与で用量依存的かつ有意に急性および遅発性嘔吐の回数を減少させた (Fig. 6, Table 18)。また, 5 mg/kg 投与群において 4 例中 1 例で嘔吐が完全に抑制された。

Table 18 Effect of FK886 on cisplatin-induced delayed emesis in ferrets (prophylactic protocol).



FK886 (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Protected/tested	Retching + Vomiting	
		Number	% Inhibition
0	0/4	792.5 ± 134.0	0
1.6	0/4	$165.7 \pm 6.2^{**}$	79
5	1/4	$68.3 \pm 30.9^{***}$	91

Values are mean \pm S.E.M. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

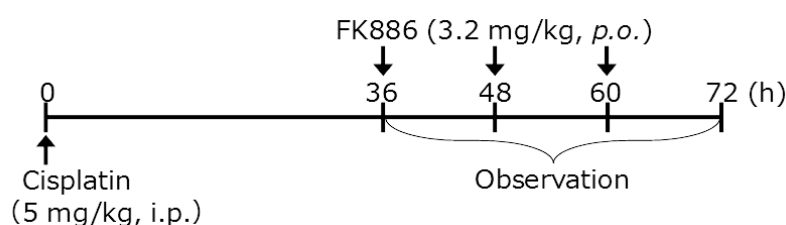
3.3 シスプラチン誘発遅発性嘔吐（治療投与）

遅発性嘔吐は急性嘔吐を抑制することにより部分的に抑制されることが知られている。そこで、遅発性嘔吐に対する FK886 の直接的な作用を検討するため、治療的プロトコルでの薬効を検討した。5 mg/kg のシスプラチン投与により遅発性嘔吐が再現性良く誘発された。FK886 ならびにアプレピタント投与試験における溶媒対照群のシスプラチン投与後 36-72 時間の嘔吐反応数はそれぞれ 319.3 ± 71.5 回（最小値-最大値：170-509 回）、 500.3 ± 76.4 回（同：335-686 回）、またグラニセトロン投与試験における溶媒対照群のシスプラチン投与後 32-72 時間の嘔吐反応数は 268.8 ± 92.4 回（同：26-394 回）であった（Table 19-21）。

FK886 (3.2 mg/kg) およびアプレピタント (1 mg/kg) の反復経口投与により、嘔吐回数は有意に減少した (Table 19, 20)。これに対し、グラニセトロン (3.2 mg/kg) の反復静脈内投与においては、嘔吐回数の中程度の減少が認められたが統計的に有意とはならなかった (Table 21)。

FK886 とアプレピタントの投与開始後の嘔吐回数を継時的に観察すると、FK886 が各投与直後に最も強い制吐作用を示したのに対し、アプレピタントは投与直後に最も強い制吐作用を示さなかった (Fig. 7, 8)。

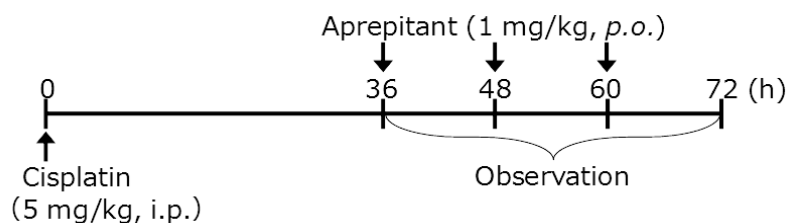
Table 19 Effect of FK886 on cisplatin-induced delayed emesis in ferrets (therapeutic protocol).



FK886 (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Protected/tested	Retching + Vomiting	
		Number	% Inhibition
0	0/4	319.3 ± 71.5	0
3.2	0/4	$68.0 \pm 22.5^*$	79

Values are mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$ vs. control group as calculated by Student's t-test.

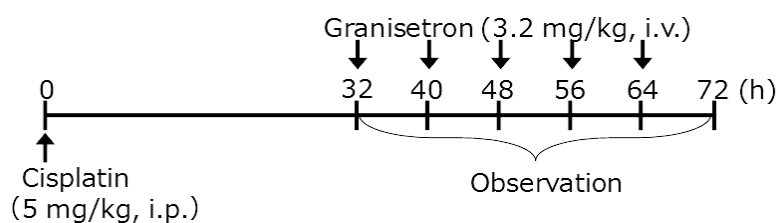
Table 20 Effect of aprepitant on cisplatin-induced delayed emesis in ferrets (therapeutic protocol).



Aprepitant (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Protected/tested	Retching + Vomiting	
		Number	% Inhibition
0	0/4	500.3 ± 76.4	0
1	0/4	100.3 ± 19.2*	80

Values are mean ± S.E.M. * $p < 0.05$ vs. control group as calculated by Student's t-test.

Table 21 Effect of granisetron on cisplatin-induced delayed emesis in ferrets (therapeutic protocol).



Granisetron (mg/kg, <i>i.v.</i>)	Protected/tested	Retching + Vomiting	
		Number	% Inhibition
0	0/4	268.8 ± 92.4	0
3.2	0/4	109.0 ± 69.9	59

Values are mean ± S.E.M. Statistically significant difference vs. control group was not observed by Student's t-test.

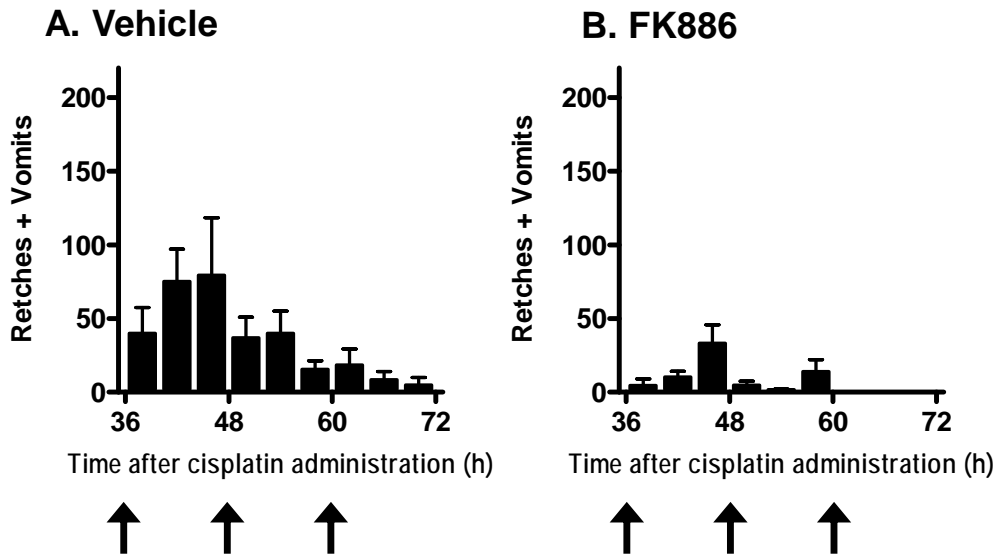


Fig. 7 Effect of oral FK886 on cisplatin-induced delayed emesis in a therapeutic protocol in ferrets. Vehicle (A) or FK886 (3.2 mg/kg; B) was administered orally 36, 48, and 60 h after cisplatin (5 mg/kg, i.p.). Arrows indicate the administration of vehicle or FK886. Results are shown as the mean \pm S.E.M. (n=4) of emetic episodes in 4-h time bins.

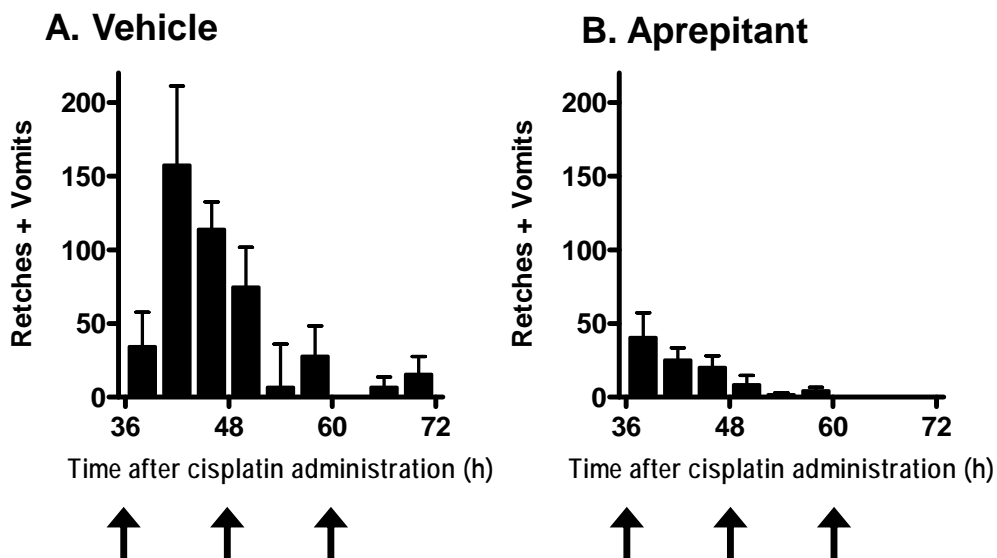
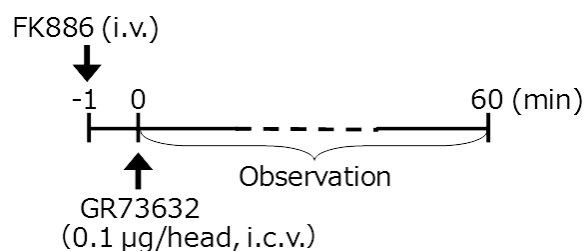


Fig. 8 Effect of oral aprepitant on cisplatin-induced delayed emesis in a therapeutic protocol in ferrets. Vehicle (A) or aprepitant (1 mg/kg; B) was administered orally 36, 48, and 60 h after cisplatin (5 mg/kg, i.p.). Arrows indicate the administration of vehicle or aprepitant. Results are shown as the mean \pm S.E.M. (n=4) of emetic episodes in 4-h time bins.

3.4 GR73632 誘発嘔吐

FK886 の制吐作用の作用点がある事を示す目的で、新規に GR73632 誘発嘔吐モデルを作製し、末梢投与による FK886 の作用を検討した。フェレットの脳幹部に GR73632 を 0.1 µg/head 投与することにより空嘔吐および嘔吐が誘発された。溶媒投与群 (n=5) において 60 分間の観察時間中に嘔吐反応の回数は 74.4 ± 54.5 回 (最小値-最大値: 4-287 回), 初回嘔吐発現時間は 1.4 ± 0.6 分 (同: 0.5-3.6 分) であった。この嘔吐反応は、0.1 mg/kg の FK886 を GR73632 投与 1 分前に静脈内に投与することにより 5 例全例で完全に消失した (Table 22)。

Table 22 Effect of FK886 on GR73632-induced emesis in ferrets.



FK886 (mg/kg, i.v.)	Protected/tested	Retching + Vomiting		Latency (min)
		Number	% Inhibition	
0	0/5	74.4 ± 54.5	0	1.4 ± 0.6
0.1	5/5	0 ± 0	100	60 ± 0***

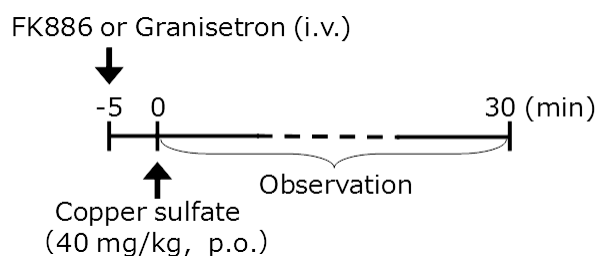
Values are mean ± S.E.M. ***p<0.001 vs. control group as calculated by Student's t-test. FK886 was administered intravenously (i.v.) 1 min before GR73632 (0.1 µg/head, i.c.v.).

3.5 硫酸銅誘発嘔吐

FK886 の制吐作用の作用点がある事を示すため、硫酸銅誘発嘔吐に対する作用を検討した。40 mg/kg の硫酸銅の経口投与により、空嘔吐および嘔吐が誘発された。溶媒投与群 (n=7) において 30 分の観察時間中の嘔吐反応回数は 84.7 ± 8.8 回 (最小値-最大値: 49-115 回)、初回嘔吐反応発現時間は 2.0 ± 0.5 分 (同: 0.2-3.2 分) であった (Table 23)。FK886 (0.032-0.32 mg/kg) を硫酸銅の投与 5 分前に静脈内投与することにより、嘔吐反応の回数は用量依存的かつ有意に減少し、0.32 mg/kg 投与群において 4 例中 2 例で嘔吐反応が完全に消失した。

一方、3.2 mg/kg グラニセトロン静脈内投与は嘔吐反応の回数を減少させなかった。

Table 23 Effects of FK886 and granisetron on copper sulfate-induced emesis in ferrets.



Treatment (mg/kg)	Protected/tested	Retching + Vomiting		Latency (min)
		Number	% Inhibition	
FK886, i.v.				
0	0/4	97.5 ± 9.8	0	1.3 ± 0.6
0.032	0/4	$61.8 \pm 9.4^*$	36	2.4 ± 0.5
0.1	0/4	$18.3 \pm 9.8^{**}$	81	6.5 ± 2.8
0.32	2/4	$8.8 \pm 7.8^{**}$	91	$17.0 \pm 7.5^*$
Granisetron, i.v.				
0	0/3	67.7 ± 9.4	0	2.9 ± 0.3
3.2	0/3	81.7 ± 6.2	-21	3.4 ± 0.2

Values are mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. control group as calculated by Dunnett's multiple comparison test.

3.6 フェレットにおける FK886 の体内動態

フェレットに FK886 を 3.2 mg/kg 静脈内および経口投与した時の血中未変化体の体内動態を検討した (Fig. 9; 平均値±標準偏差)。FK886 静脈内投与後の血漿中濃度は投与 5 分後に 2271 ng/mL を示し、以後見かけ上二相性に消失した (Table 24)。投与後 2 時間からは 2.0 時間の半減期で消失し、総体内クリアランスは 1.290 L/h/kg, 投与後無限時間までの AUC は 2098 ng·h/mL であった。

経口投与後の血漿中濃度は最初の採血ポイントである投与後 30 分に最高濃度である 422 ng/mL に達し、投与後 2 時間から 1.9 時間の半減期で消失した。投与後無限時間までの AUC は 985 ng·h/mL であった。生物学的利用率は 47% であった。

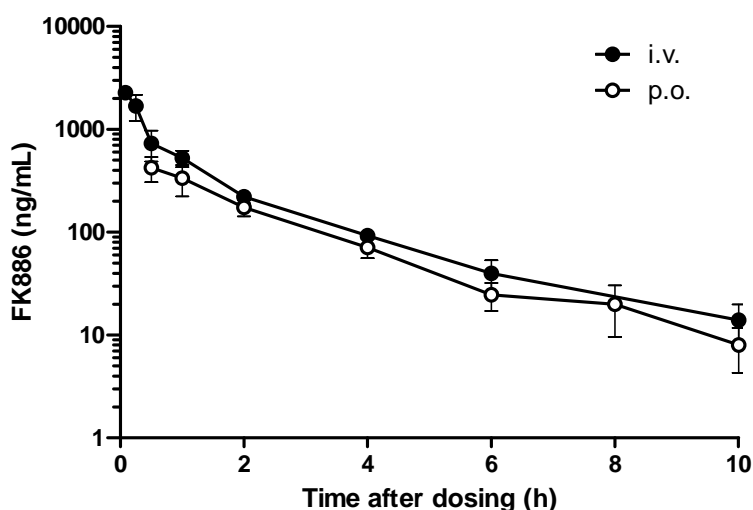


Fig. 9 Plasma concentrations of FK886 after intravenous (closed circles) and oral (open circles) administration at a dose of 3.2 mg/kg. Each value represents the mean ± S.D. (n=3).

Table 24 Pharmacokinetic parameters after single intravenous and oral administration of FK886 at 3.2 mg/kg to male ferrets.

Route	C ₀ (ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	t _{1/2} (h)	AUC (ng·h/mL)	CL _{tot} (L/h/kg)	CL/F (L/h/kg)	F
i.v.	2275±190	-	-	2.0±0.3	2098±165	1.290±0.102	-	-
p.o.	-	422±116	0.5±0.0	1.9±0.5	985±168	-	2.784±0.510	47

Values are mean ± S.D. (n=3).

4 考察

フェレットシスプラチン誘発嘔吐は、種々の制吐薬の前臨床評価に用いられているモデルである。本研究では、これまでの報告に準じて 10 mg/kg シスプラチン誘発嘔吐反応を急性嘔吐モデル、5 mg/kg シスプラチン誘発嘔吐反応を遅発性嘔吐モデルとし、対照薬としてグラニセトロンを評価した。5-HT₃ 受容体拮抗薬は動物におけるシスプラチン誘発の急性嘔吐を完全に抑制するが、遅発性嘔吐は完全には抑制しないことが報告されている (85, 86)。本研究においても、グラニセトロンは急性嘔吐反応を完全に抑制したが、遅発性嘔吐は高用量を投与しても完全に抑制されなかった。このように、本モデルが 5-HT₃ 受容体拮抗薬に対する反応性においてこれまでの報告と一致することが示された。

FK886 はフェレットシスプラチン誘発急性および遅発性嘔吐を強力に抑制した。FK886 は急性嘔吐を 3.2 mg/kg の経口投与で投与後 12 時間にわたり抑制したが、遅発性嘔吐に対しても、12 時間間隔の経口投与で、予防的プロトコールにおいては 1.6 mg/kg 以上、治療的プロトコールにおいては 3.2 mg/kg で有意に抑制した。このように、FK886 が急性嘔吐と遅発性嘔吐で投与プロトコールに関係なくほぼ同じ用量で制吐作用を示したことから、FK886 が遅延性嘔吐を直接的に抑制している可能性が示された。フェレットにおいて、急性嘔吐が腹部迷走神経および大内臓神経の切離により完全に消失するのに対し (29, 87)、遅発性嘔吐は嘔吐腹部迷走神経および大内臓神経の切離により抑制されないことから (88)、遅発性嘔吐への末梢からの入力への寄与は少ないものと考えられた。一方で、遅発性嘔吐は最後野の切除により抑制されることから (88) この部位の活性化を抑制することが嘔吐の抑制に重要であることが示唆され、このことは NK₁ 受容体拮抗薬の遅発性嘔吐に対する薬効を支持するものと考えられた。

FK886 の制吐作用の作用点が脳内にあることを示すため、脳幹部への GR73632 直接投与による嘔吐誘発を試みた。GR73632 の第 4 脳室内投与により嘔吐反応が出現し、それが FK886 の末梢投与により完全に抑制されたことから、嘔吐反応の発現に脳幹部 NK₁ 受容体の活性化が寄与することが改めて示された。フェレットにおける NK₁ 作動薬誘発嘔吐は、唯一報告されている Bountra らのモデル (89) においても、空嘔吐のみ誘発され嘔吐は誘発されていない。従って本研究は GR73632 の脳幹部投与で嘔吐が観察された最初の報告となる。

FK886 の制吐作用の作用点が脳内にあることは硫酸銅誘発嘔吐においても示された。硫酸銅誘発嘔吐は硫酸銅が胃管腔に存在する化学受容器を直接刺激し、発生した求心性インパルスが迷走神経求心性線維を通過して脳幹に達することにより誘発されると考えられている (90)。従って、本モデルに 5-HT₃ 受容体活性化の寄与は低く、実際グラニセトロンは無効であった。このモデルに対し、FK886 は静脈内への投与で低用量より嘔吐反応を抑制した。GR73632 誘発嘔吐および本モデルにおける結果より、FK886 の作用が中枢、特に脳幹部 NK₁ 受容体の活性化抑制によりもたらされている可能性が示唆された。

遅発性嘔吐モデルに対する反復投与において FK886 の制吐作用は各経口投与の直後に最も強く表れた。薬物動態試験において FK886 が経口投与後最初の採血ポイントである 30 分後に最高濃度となったことから、FK886 は投与後速やかに吸収されると考えられた。また、FK886 が血中から脳内へ素早く移行することも GR73632 誘発嘔吐ならびに硫酸銅誘発嘔吐に対する作用発現

の速さから推測された。すなわち、GR73632 誘発嘔吐および硫酸銅誘発嘔吐は嘔吐発現までの時間が短く、ともに通常3分以内に初回嘔吐が発現する。これに対し、GR73632 投与1分前あるいは硫酸銅投与5分前に静脈内に投与されたFK886は、いずれの嘔吐に対しても初回嘔吐発現時間を著明に延長した。このことから経口投与されたFK886は速やかにかつ効率よく脳内に移行し、シスプラチン誘発遅延性嘔吐に対して即効性の抑制作用を発揮したと考えられた。

アプレピタントも、FK886同様にシスプラチン誘発遅延性嘔吐を治療的プロトコールで著明に抑制した。興味深いことに、FK886の制吐作用は経口投与直後で最も強かったのに対し、アプレピタントは経口投与直後には強い制吐作用を示さなかった。フェレットにおいてアプレピタントは経口投与後に脳組織中濃度が最高に達するのに4~10時間を要することが報告されている(98)。よって、アプレピタントは経口投与後の作用発現が遅い薬物であると考えられた。

本検討において、FK886は、フェレットシスプラチン誘発急性および遅延性嘔吐を抑制し、特に遅延性嘔吐に対して、発症後の経口投与で投与直後から著明に嘔吐を抑制した。一方、アプレピタントは急性嘔吐のみならず遅延性嘔吐に対する制吐作用を有するものの、作用発現までに時間を要することが明らかとなった。以上より、FK886は、アプレピタントとは異なり、CINVに対し嘔吐発現後に経口投与で治療的に用いることが可能な制吐薬となる可能性を有していると考えられた。

5 小括

本章において著者らは FK886 の CINV への適応可能性を明らかにするため、フェレットシスプラチン誘発急性および遅発性嘔吐に対する作用を検討し、以下のことを明らかにした。

1. FK886 はフェレットシスプラチン誘発急性嘔吐および遅発性嘔吐を強力に抑制した
2. FK886 はフェレットシスプラチン誘発遅発性嘔吐を治療投与で著明に抑制した
3. フェレットシスプラチン誘発遅発性嘔吐に対する FK886 の経口投与後の作用発現は早かった
4. FK886 はフェレットにおいても経口投与後の吸収は速やかであった
5. FK886 はフェレット GR73632 誘発嘔吐を静脈内投与で著明に抑制した
6. FK886 はフェレット硫酸銅誘発嘔吐を静脈内投与で著明に抑制した
7. アプレピタントはシスプラチン誘発急性嘔吐のみならず遅発性嘔吐を治療的プロトコールで著明に抑制した。
8. フェレットシスプラチン誘発遅発性嘔吐に対するアプレピタントの経口投与後の作用発現は FK886 に比べ遅かった

以上より、FK886 が CINV の急性および遅発性嘔吐の両者を抑制し、特に遅発性嘔吐に対して治療投与で有効性を示す可能性が示された。FK886 の経口投与後の作用発現は早く、これは経口投与後の吸収および血中から脳への移行がともに速いためと考えられた。また、FK886 の制吐作用は脳内 NK_1 受容体の活性化抑制によることが示された。よって、FK886 は CINV に対し嘔吐発現後に経口投与で治療的に用いることが可能な制吐薬となる可能性を有していると考えられた。

総括

新規 NK₁ 受容体拮抗薬 FK886 の薬理学的特徴ならびに制吐薬としての有用性について検討を行い、以下の知見を得た。

1. FK886 は強力な NK₁ 受容体選択的拮抗薬である
2. 末梢および中枢刺激誘発の嘔吐反応をともに抑制する
3. シスプラチン誘発急性・遅発性嘔吐をともに抑制する
4. シスプラチン誘発遅発性嘔吐を治療投与で抑制する
5. 脳内 NK₁ 受容体活性化を抑制することにより制吐作用を発現する
6. 優れた経口吸収性ならびに脳内移行性を有し、経口投与後速やかに制吐作用を発現する

本研究結果より、FK886 が、がん化学療法による急性および遅発性嘔吐に対し、経口投与で治療的に用いることが可能な制吐剤となる可能性が示された。

CINV はがん化学療法を受けている患者の生活に大きな負の影響を及ぼす。患者の飲食物の摂取を妨げて身体的なダメージを与えるだけでなく、精神的苦痛を与え、しばしば治療の継続を困難にする (91-93)。1990 年代に 5-HT₃ 受容体拮抗薬が制吐薬として使われるようになってからは、急性嘔吐のコントロールは比較的良好とされているが、遅発性嘔吐のコントロールは未だ不十分であり (33, 34)、化学療法を受けたがん患者の 40-75% が遅発性嘔吐を経験している (34)。

一方で、今後考慮しなくてはならないのは、がんの化学療法を受けた患者の全てが遅発性嘔吐を経験するわけではないということである。例えばシスプラチン療法に関連する遅発性嘔吐の発現率は嘔吐治療を受けていない場合でも 43-89% と報告されている (94)。遅発性嘔吐の発現は性別、年齢、化学療法剤の用量、急性嘔吐のコントロール状態等に影響されるため、予測が非常に困難である (95)。一般に嘔吐は治療より予防の方が容易であるとされているため、現在の CINV 対策は悪心・嘔吐の予防に力が注がれており、制吐薬は化学療法剤の催吐性リスクに応じて前投与される。が、制吐薬も決して安価ではなく、このような使われ方は、今後医療経済的な問題を生む可能性が考えられる。よって、今後は嘔吐の対症療法の確立にも力を注ぎ、嘔吐ケアの選択肢を増やすことが意義のあることと思われる (96)。中枢作用型 NK₁ 受容体拮抗薬が発症後の遅発性嘔吐を抑制する可能性は本研究だけでなくこれまでの研究からも示されており (37, 97)、NK₁ 受容体拮抗薬は嘔吐の治療に用いることが可能であると思われる。しかしながら、唯一臨床で使われている NK₁ 受容体拮抗薬であるアプレピタントの用法は嘔吐の予防に限定されており、また、嘔吐の治療を適応とした NK₁ 受容体拮抗薬の開発も行われていない。ヒトにおけるアプレピタントの血中動態はフェレットと同様のパターンを示すことから (98)、アプレピタントはヒトにおいても経口投与後の作用発現に時間がかかると考えられる。したがって、発症した嘔吐の治療目的でアプレピタントの適応外使用を試みたとしても、十分なコントロールを得るのは難しいことが予想される。

2010 年、CINV を適応とした薬剤として、第二世代の 5-HT₃ 受容体拮抗薬であるパロノセトロン[®]の販売が国内でも開始された。パロノセトロンは、5-HT₃ 受容体にアロステリックに結合して

拮抗作用を発現する薬剤で (99), 血中消失半減期が約 40 時間と非常に長いことに加え, 遅発性嘔吐に対しても制吐作用を示すのが特徴である。また, 2014 年中には, パロノセトロンと新規 NK_1 受容体拮抗薬であるネツピタントとの合剤が発売される見込みである。いずれも, 臨床試験において良好な成績を示しており, CINV のコントロールをさらに向上させることが期待される。しかしながら, これらはいずれも催吐リスクの高い化学療法剤投与の際に主に予防的に用いられる薬剤であり, 対症療法を含め嘔吐ケアの選択肢を増やすことに目を向けることが必要なことはこれらの薬剤が登場した後も変わらない。経口投与後の作用発現の速い FK886 のような薬物の使用により, より細やかな嘔吐のケアが可能になることを期待している。

謝辞

稿を終えるにあたり、本論文の作成に終始懇切なるご指導とご鞭撻を賜りました京都薬科大学病態薬科学系 臨床薬理学分野 教授 中田徹男博士に謹んで感謝の意を表し、厚く御礼申し上げます。

また、本論文の作成にあたり、ご指導、ご校閲を賜りました京都薬科大学 病態薬科学系 薬物治療学分野 教授 加藤伸一博士ならびに病態薬科学系 薬理学分野 教授 大矢進博士に深謝いたします。

本論文の作成に終始有益なるご助言をいただき、また格別のご高配を賜りましたアステラス製薬（株）創薬推進研究所創薬代謝研究室室長 田端健司博士に心より感謝いたします。

本論文の作成に終始ご理解とご鞭撻を賜りましたアステラス製薬（株）創薬推進研究所所長 寺村俊夫博士に厚く御礼申し上げます。

本研究において終始懇切なるご指導を頂き、また、論文博士審査に向け多大なご支援を賜りましたアステラスリサーチテクノロジー（株）薬理研究部主管研究員 山國尚志博士に深く感謝いたします。

本研究において多くの貴重なご助言を賜りましたアステラス製薬（株）薬理研究所主任研究員 今住克則博士に深く感謝いたします。

そして、このような機会を与えてくださいましたアステラス製薬（株）薬理研究所主管研究員 濱田香理博士ならびにアステラス製薬（株）研究本部長 内田渡博士に厚く御礼申し上げます。

最後に、本論文の作成に様々な形で協力してくれた、夫と二人の娘に心から感謝いたします。

引用文献

1. Maggi CA, Patacchini R, Rovero P, and Giachetti A. Tachykinin receptors and tachykinin receptor antagonists. *J Auton Pharmacol*, **13**, 23-93 (1993).
2. Khawaja AM and Rogers DF. Tachykinins: receptor to effector. *Int J Biochem Cell Biol*, **28**, 721-738 (1996).
3. Severini C, Improta G, Falconieri-Erspamer G, Salvadori S, and Erspamer V. The tachykinin peptide family. *Pharmacol Rev*, **54**, 285-322 (2002).
4. Satake H and Kawada T. Overview of the primary structure, tissue-distribution, and functions of tachykinins and their receptors. *Curr Drug Targets*, **7**, 963-974 (2006).
5. Chang MM, Leeman SE, and Niall HD. Amino-acid sequence of substance P. *Nat New Biol*, **232**, 86-87 (1971).
6. Kangawa K, Minamino N, Fukuda A, and Matsuo H. Neuromedin K: a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun*, **114**, 533-540 (1983).
7. Kimura S, Okada M, Sugita Y, Kanazawa I, and Munekata E. Novel Neuropeptides, Neurokinin α and β , Isolated from Porcine Spinal Cord *Proc Jpn Acad Ser B*, **59**, 101-104 (1983).
8. Maggi CA and Schwartz TW. The dual nature of the tachykinin NK1 receptor. *Trends Pharmacol Sci*, **18**, 351-355 (1997).
9. Takeda Y, Chou KB, Takeda J, Sachais BS, and Krause JE. Molecular cloning, structural characterization and functional expression of the human substance P receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, **179**, 1232-1240 (1991).
10. Yokota Y, Sasai Y, Tanaka K, Fujiwara T, Tsuchida K, Shigemoto R, Kakizuka A, Ohkubo H, and Nakanishi S. Molecular characterization of a functional cDNA for rat substance P receptor. *J Biol Chem*, **264**, 17649-17652 (1989).
11. Guard S and Watson SP. Tachykinin receptor types: Classification and membrane signalling mechanisms. *Neurochem Int*, **18**, 149-165 (1991).
12. Henry J. Discussion of nomenclature for tachykinins and tachykinin receptors., in *Substance P and Neurokinins.*, Henly JI, CR, Cuello Ac, Pelletier G, Quirion R, Regoli D., Editor. 1987, Springer-Verlag. p. xvii.
13. Regoli D, Drapeau G, Dion S, and D'Orleans-Juste P. Pharmacological receptors for substance P and neurokinins. *Life Sci*, **40**, 109-117 (1987).
14. Kurtz MM, Wang R, Clements MK, Cascieri MA, Austin CP, Cunningham BR, Chicchi GG, and Liu Q. Identification, localization and receptor characterization of novel mammalian substance P-like peptides. *Gene*, **296**, 205-212 (2002).
15. Page NM, Bell NJ, Gardiner SM, Manyonda IT, Brayley KJ, Strange PG, and Lowry PJ. Characterization of the endokinins: human tachykinins with cardiovascular activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 6245-6250 (2003).

16. Page NM. New challenges in the study of the mammalian tachykinins. *Peptides*, **26**, 1356-1368 (2005).
17. Duffy RA. Potential therapeutic targets for neurokinin-1 receptor antagonists. *Expert Opin Emerg Drugs*, **9**, 9-21 (2004).
18. Rupniak NM and Kramer MS. Discovery of the antidepressant and anti-emetic efficacy of substance P receptor (NK1) antagonists. *Trends Pharmacol Sci*, **20**, 485-490 (1999).
19. Alvaro G and Di Fabio R. Neurokinin 1 receptor antagonists--current prospects. *Curr Opin Drug Discov Devel*, **10**, 613-621 (2007).
20. Huang SC and Korlipara VL. Neurokinin-1 receptor antagonists: a comprehensive patent survey. *Expert Opin Ther Pat*, **20**, 1019-1045 (2010).
21. Fujii T, Murai M, Morimoto H, Maeda Y, Yamaoka M, Hagiwara D, Miyake H, Ikari N, and Matsuo M. Pharmacological profile of a high affinity dipeptide NK1 receptor antagonist, FK888. *Br J Pharmacol*, **107**, 785-789 (1992).
22. Hagiwara D, Miyake H, Igari N, Murano K, Morimoto H, Murai M, Fujii T, and Matsuo M. Design of a novel dipeptide substance P antagonist FK888. *Regul Pept*, **46**, 332-334 (1993).
23. Murai M, Maeda Y, Yamaoka M, Hagiwara D, Miyake H, Matsuo M, and Fujii T. The pharmacological properties of FK888, a novel dipeptide NK1 antagonist. *Regul Pept*, **46**, 335-337 (1993).
24. Manabe T MH, Shigenaga S, Murano K, Matsuda H, Karino M, Fujii T. Design and synthesis of new nonpeptide NK1 antagonists by chemical modification of FK888. *ACS Meeting 2000, 220th, Washington D.C.*, MEDI 121 (2000).
25. Eikyu Y TK, Shigenaga S, Azami H, Kayakiri N, Ishida J, Morita M, Sasaki H, Terasaka T, Manabe T, Imazumi K, Okada M, and Ohta M. Creation of potent, orally active and highly CNS-penetrant NK₁ receptor antagonists. *AFMC International Medicinal Chemistry Symposium 2011, 8th, Tokyo*, Abs 2P-179 (2011).
26. Davis CJ, Harding RK, Leslie RA, and Andrew PLR. The Organisation of Vomiting as a Protective Reflex, in *Nausea and Vomiting: Mechanisms and Treatment* Davis, CJ, Lake-Bakaar, GV, and Grahame-Smith, DG, Editors. 1986, Springer Berlin Heidelberg. p. 65-75.
27. Quigley EM, Hasler WL, and Parkman HP. AGA technical review on nausea and vomiting. *Gastroenterology*, **120**, 263-286 (2001).
28. Horn CC. Is there a need to identify new anti-emetic drugs? *Drug Discov Today Ther Strateg*, **4**, 183-187 (2007).
29. Hawthorn J, Ostler KJ, and Andrews PL. The role of the abdominal visceral innervation and 5-hydroxytryptamine M-receptors in vomiting induced by the cytotoxic drugs cyclophosphamide and cis-platin in the ferret. *Q J Exp Physiol*, **73**, 7-21 (1988).
30. Andrews PL, Davis CJ, Bingham S, Davidson HI, Hawthorn J, and Maskell L. The abdominal visceral innervation and the emetic reflex: pathways, pharmacology, and plasticity. *Can J Physiol Pharmacol*, **68**, 325-345 (1990).

31. Marty M, Pouillart P, Scholl S, Droz JP, Azab M, Brion N, Pujade-Lauraine E, Paule B, Paes D, and Bons J. Comparison of the 5-hydroxytryptamine₃ (serotonin) antagonist ondansetron (GR 38032F) with high-dose metoclopramide in the control of cisplatin-induced emesis. *N Engl J Med*, **322**, 816-821 (1990).
32. Kris MG, Gralla RJ, Clark RA, and Tyson LB. Phase II trials of the serotonin antagonist GR38032F for the control of vomiting caused by cisplatin. *J Natl Cancer Inst*, **81**, 42-46 (1989).
33. Hickok JT, Roscoe JA, Morrow GR, King DK, Atkins JN, and Fitch TR. Nausea and emesis remain significant problems of chemotherapy despite prophylaxis with 5-hydroxytryptamine-3 antiemetics: a University of Rochester James P. Wilmot Cancer Center Community Clinical Oncology Program Study of 360 cancer patients treated in the community. *Cancer*, **97**, 2880-2886 (2003).
34. Grunberg SM, Deuson RR, Mavros P, Geling O, Hansen M, Cruciani G, Daniele B, De Pouvourville G, Rubenstein EB, and Daugaard G. Incidence of chemotherapy-induced nausea and emesis after modern antiemetics. *Cancer*, **100**, 2261-2268 (2004).
35. Rudd JA, Jordan CC, and Naylor RJ. The action of the NK1 tachykinin receptor antagonist, CP 99,994, in antagonizing the acute and delayed emesis induced by cisplatin in the ferret. *Br J Pharmacol*, **119**, 931-936 (1996).
36. Singh L, Field MJ, Hughes J, Kuo BS, Suman-Chauhan N, Tuladhar BR, Wright DS, and Naylor RJ. The tachykinin NK1 receptor antagonist PD 154075 blocks cisplatin-induced delayed emesis in the ferret. *Eur J Pharmacol*, **321**, 209-216 (1997).
37. Tattersall FD, Rycroft W, Cumberbatch M, Mason G, Tye S, Williamson DJ, Hale JJ, Mills SG, Finke PE, MacCoss M, Sadowski S, Ber E, Cascieri M, Hill RG, MacIntyre DE, and Hargreaves RJ. The novel NK1 receptor antagonist MK-0869 (L-754,030) and its water soluble phosphoryl prodrug, L-758,298, inhibit acute and delayed cisplatin-induced emesis in ferrets. *Neuropharmacology*, **39**, 652-663 (2000).
38. Watanabe Y, Asai H, Ishii T, Kiuchi S, Okamoto M, Taniguchi H, Nagasaki M, and Saito A. Pharmacological characterization of T-2328, 2-fluoro-4'-methoxy-3'-[[[(2S,3S)-2-phenyl-3-piperidinyl]amino]methyl]-[1,1'-biphenyl]-4-carbonitrile dihydrochloride, as a brain-penetrating antagonist of tachykinin NK1 receptor. *J Pharmacol Sci*, **106**, 121-127 (2008).
39. Saito R, Takano Y, and Kamiya HO. Roles of substance P and NK(1) receptor in the brainstem in the development of emesis. *J Pharmacol Sci*, **91**, 87-94 (2003).
40. Sankhala KK, Pandya DM, Sarantopoulos J, Soefje SA, Giles FJ, and Chawla SP. Prevention of chemotherapy induced nausea and vomiting: a focus on aprepitant. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, **5**, 1607-1614 (2009).
41. Curran MP and Robinson DM. Aprepitant: a review of its use in the prevention of nausea and vomiting. *Drugs*, **69**, 1853-1878 (2009).
42. Diemunsch P, Joshi GP, and Brichant JF. Neurokinin-1 receptor antagonists in the prevention of postoperative nausea and vomiting. *Br J Anaesth*, **103**, 7-13 (2009).

43. Aramori I, Morikawa N, Zenkoh J, O'Donnell N, Iwami M, Kojo H, Notsu Y, Okuhara M, Ono S, and Nakanishi S. Subtype- and species-selectivity of a tachykinin receptor antagonist, FK888, for cloned rat and human tachykinin receptors. *Eur J Pharmacol*, **269**, 277-281 (1994).
44. Bristow LJ and Young L. Chromodacryorrhea and repetitive hind paw tapping: models of peripheral and central tachykinin NK1 receptor activation in gerbils. *Eur J Pharmacol*, **253**, 245-252 (1994).
45. Vauquelin G, Van Liefde I, Birzbier BB, and Vanderheyden PM. New insights in insurmountable antagonism. *Fundam Clin Pharmacol*, **16**, 263-272 (2002).
46. Kenakin T, Jenkinson S, and Watson C. Determining the potency and molecular mechanism of action of insurmountable antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*, **319**, 710-723 (2006).
47. Turcatti G, Zoffmann S, Lowe JA, 3rd, Drozda SE, Chassaing G, Schwartz TW, and Chollet A. Characterization of non-peptide antagonist and peptide agonist binding sites of the NK1 receptor with fluorescent ligands. *J Biol Chem*, **272**, 21167-21175 (1997).
48. Holst B, Zoffmann S, Elling CE, Hjorth SA, and Schwartz TW. Steric hindrance mutagenesis versus alanine scan in mapping of ligand binding sites in the tachykinin NK1 receptor. *Mol Pharmacol*, **53**, 166-175 (1998).
49. Almeida TA, Rojo J, Nieto PM, Pinto FM, Hernandez M, Martin JD, and Candenas ML. Tachykinins and tachykinin receptors: structure and activity relationships. *Curr Med Chem*, **11**, 2045-2081 (2004).
50. Snider RM, Constantine JW, Lowe JA, 3rd, Longo KP, Lebel WS, Woody HA, Drozda SE, Desai MC, Vinick FJ, Spencer RW, and *et al.* A potent nonpeptide antagonist of the substance P (NK1) receptor. *Science*, **251**, 435-437 (1991).
51. Garret C, Carruette A, Fardin V, Moussaoui S, Peyronel JF, Blanchard JC, and Laduron PM. Pharmacological properties of a potent and selective nonpeptide substance P antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **88**, 10208-10212 (1991).
52. Engberg S, Ahlstedt I, Leffler A, Lindstrom E, Kristensson E, Svensson A, Pahlman I, Johansson A, Drmota T, and von Mentzer B. Molecular cloning, mutations and effects of NK1 receptor antagonists reveal the human-like pharmacology of gerbil NK1 receptors. *Biochem Pharmacol*, **73**, 259-269 (2007).
53. Fong TM, Yu H, and Strader CD. Molecular basis for the species selectivity of the neurokinin-1 receptor antagonists CP-96,345 and RP67580. *J Biol Chem*, **267**, 25668-25671 (1992).
54. Sachais BS, Snider RM, Lowe JA, 3rd, and Krause JE. Molecular basis for the species selectivity of the substance P antagonist CP-96,345. *J Biol Chem*, **268**, 2319-2323 (1993).
55. Saria A. The tachykinin NK1 receptor in the brain: pharmacology and putative functions. *Eur J Pharmacol*, **375**, 51-60 (1999).
56. Ballard TM, Sanger S, and Higgins GA. Inhibition of shock-induced foot tapping behaviour in the gerbil by a tachykinin NK1 receptor antagonist. *Eur J Pharmacol*, **412**, 255-264 (2001).

57. Rupniak NM, Webb JK, Fisher A, Smith D, and Boyce S. The substance P (NK1) receptor antagonist L-760735 inhibits fear conditioning in gerbils. *Neuropharmacology*, **44**, 516-523 (2003).
58. Rupniak NM and Williams AR. Differential inhibition of foot tapping and chromodacryorrhoea in gerbils by CNS penetrant and non-penetrant tachykinin NK1 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol*, **265**, 179-183 (1994).
59. Sundqvist M, Kristensson E, Adolfsson R, Leffler A, Ahlstedt I, Engberg S, Drmota T, Sigfridsson K, Jussila R, de Verdier J, Noven A, Johansson A, Pahlman I, von Mentzer B, and Lindstrom E. Senktide-induced gerbil foot tapping behaviour is blocked by selective tachykinin NK1 and NK3 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol*, **577**, 78-86 (2007).
60. Hagan RM, Ireland SJ, Jordan CC, Beresford IJ, Deal MJ, and Ward P. Receptor-selective, peptidase-resistant agonists at neurokinin NK-1 and NK-2 receptors: new tools for investigating neurokinin function. *Neuropeptides*, **19**, 127-135 (1991).
61. Duffy RA, Varty GB, Morgan CA, and Lachowicz JE. Correlation of neurokinin (NK) 1 receptor occupancy in gerbil striatum with behavioral effects of NK1 antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*, **301**, 536-542 (2002).
62. Murakami Y, Noda A, Osoda K, Matsuya T, Sogabe H, Take K, Matsuoka N, and Nishimura S. Synthesis of ¹¹C-labeled FK886, a novel NK1 receptor ligand and the pharmacodynamic PET study in animals. *SNM Annual Meeting, May 2007, J. Nucl. Med*, **48**, 301P (2007).
63. Gardner CJ, Twissell DJ, Dale TJ, Gale JD, Jordan CC, Kilpatrick GJ, Bountra C, and Ward P. The broad-spectrum anti-emetic activity of the novel non-peptide tachykinin NK1 receptor antagonist GR203040. *Br J Pharmacol*, **116**, 3158-3163 (1995).
64. Gardner CJ, Armour DR, Beattie DT, Gale JD, Hawcock AB, Kilpatrick GJ, Twissell DJ, and Ward P. GR205171: a novel antagonist with high affinity for the tachykinin NK1 receptor, and potent broad-spectrum anti-emetic activity. *Regul Pept*, **65**, 45-53 (1996).
65. Watson JW, Gonsalves SF, Fossa AA, McLean S, Seeger T, Obach S, and Andrews PL. The anti-emetic effects of CP-99,994 in the ferret and the dog: role of the NK1 receptor. *Br J Pharmacol*, **115**, 84-94 (1995).
66. Gonsalves S, Watson J, and Ashton C. Broad spectrum antiemetic effects of CP-122,721, a tachykinin NK1 receptor antagonist, in ferrets. *Eur J Pharmacol*, **305**, 181-185 (1996).
67. Tattersall FD, Rycroft W, Francis B, Pearce D, Merchant K, MacLeod AM, Ladduwahetty T, Keown L, Swain C, Baker R, Cascieri M, Ber E, Metzger J, MacIntyre DE, Hill RG, and Hargreaves RJ. Tachykinin NK1 receptor antagonists act centrally to inhibit emesis induced by the chemotherapeutic agent cisplatin in ferrets. *Neuropharmacology*, **35**, 1121-1129 (1996).
68. Rupniak NM, Tattersall FD, Williams AR, Rycroft W, Carlson EJ, Cascieri MA, Sadowski S, Ber E, Hale JJ, Mills SG, MacCoss M, Seward E, Huscroft I, Owen S, Swain CJ, Hill RG, and Hargreaves RJ. In vitro and in vivo predictors of the anti-emetic activity of tachykinin NK1 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol*, **326**, 201-209 (1997).

69. Kamato T, Miyata K, Ito H, Yuki H, Yamano M, and Honda K. Antiemetic effects of YM060, a potent and selective serotonin (5HT)₃-receptor antagonist, in ferrets and dogs. *Jpn J Pharmacol*, **57**, 387-395 (1991).
70. Bermudez J, Boyle EA, Miner WD, and Sanger GJ. The anti-emetic potential of the 5-hydroxytryptamine₃ receptor antagonist BRL 43694. *Br J Cancer*, **58**, 644-650 (1988).
71. Yamakuni H, Sawai-Nakayama H, Imazumi K, Maeda Y, Matsuo M, Manda T, and Mutoh S, Resiniferatoxin antagonizes cisplatin-induced emesis in dogs and ferrets. *Eur J Pharmacol*, **442**, 273-278 (2002).
72. 田端健司, 山岡清, 貝原徳紀, 鈴木眞吾, 寺川雅人, 秦武久. Microsoft Excel(R)で利用可能なモーメント解析プログラム MOMENT(EXCEL). *薬物動態*, **14**, 286-293 (1999).
73. Wang SC and Borison HL. A new concept of organization of the central emetic mechanism: recent studies on the sites of action of apomorphine, copper sulfate and cardiac glycosides. *Gastroenterology*, **22**, 1-12 (1952).
74. Reynolds DJ, Barber NA, Grahame-Smith DG, and Leslie RA. Cisplatin-evoked induction of c-fos protein in the brainstem of the ferret: the effect of cervical vagotomy and the anti-emetic 5-HT₃ receptor antagonist granisetron (BRL 43694). *Brain Res*, **565**, 231-236 (1991).
75. De Jonghe BC and Horn CC. Chemotherapy agent cisplatin induces 48-h Fos expression in the brain of a vomiting species, the house musk shrew (*Suncus murinus*). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **296**, R902-911 (2009).
76. Chin CL, Fox GB, Hradil VP, Osinski MA, McGaraughty SP, Skoubis PD, Cox BF, and Luo Y. Pharmacological MRI in awake rats reveals neural activity in area postrema and nucleus tractus solitarius: relevance as a potential biomarker for detecting drug-induced emesis. *Neuroimage*, **33**, 1152-1160 (2006).
77. Darmani NA and Ray AP. Evidence for a re-evaluation of the neurochemical and anatomical bases of chemotherapy-induced vomiting. *Chem Rev*, **109**, 3158-3199 (2009).
78. Darmani NA, Dey D, Chebolu S, Amos B, Kandpal R, and Alkam T. Cisplatin causes over-expression of tachykinin NK(1) receptors and increases ERK1/2- and PKA- phosphorylation during peak immediate- and delayed-phase emesis in the least shrew (*Cryptotis parva*) brainstem. *Eur J Pharmacol*, **698**, 161-169 (2013).
79. Haga K, Inaba K, Shoji H, Morimoto Y, Fukuda T, and Setoguchi M. The effects of orally administered Y-25130, a selective serotonin₃-receptor antagonist, on chemotherapeutic agent-induced emesis. *Jpn J Pharmacol*, **63**, 377-383 (1993).
80. Rudd JA, Jordan CC, and Naylor RJ. Profiles of emetic action of cisplatin in the ferret: a potential model of acute and delayed emesis. *Eur J Pharmacol*, **262**, R1-2 (1994).
81. Percie du Sert N, Rudd JA, Apfel CC, and Andrews PL. Cisplatin-induced emesis: systematic review and meta-analysis of the ferret model and the effects of 5-HT₃ receptor antagonists. *Cancer Chemother Pharmacol*, **67**, 667-686 (2011).

82. Yamakuni H, Nakayama H, Matsui S, Imazumi K, Matsuo M, and Mutoh S. Inhibitory effect of zacopride on Cisplatin-induced delayed emesis in ferrets. *J Pharmacol Sci*, **101**, 99-102 (2006).
83. Nakayama H, Yamakuni H, Higaki M, Ishikawa H, Imazumi K, Matsuo M, and Mutoh S. Antiemetic activity of FK1052, a 5-HT₃- and 5-HT₄-receptor antagonist, in *Suncus murinus* and ferrets. *J Pharmacol Sci.*, **98**, 396-403 (2005).
84. Higgins GA, Kilpatrick GJ, Bunce KT, Jones BJ, and Tyers MB. 5-HT₃ receptor antagonists injected into the area postrema inhibit cisplatin-induced emesis in the ferret. *Br J Pharmacol*, **97**, 247-255 (1989).
85. Fukunaka N, Sagae S, Kudo R, Endo T, Hirafuji M, and Minami M. Effects of granisetron and its combination with dexamethasone on cisplatin-induced delayed emesis in the ferret. *Gen Pharmacol*, **31**, 775-781 (1998).
86. Rudd JA and Naylor RJ. Effects of 5-HT₃ receptor antagonists on models of acute and delayed emesis induced by cisplatin in the ferret. *Neuropharmacology*, **33**, 1607-1608 (1994).
87. Kamato T, Ito H, Nagakura Y, Nishida A, Yuki H, Yamano M, and Miyata K. Mechanisms of cisplatin- and m-chlorophenylbiguanide-induced emesis in ferrets. *Eur J Pharmacol*, **238**, 369-376 (1993).
88. Percie du Sert N, Rudd JA, Moss R, and Andrews PL. The delayed phase of cisplatin-induced emesis is mediated by the area postrema and not the abdominal visceral innervation in the ferret. *Neurosci Lett*, **465**, 16-20 (2009).
89. Bountra C, Gale JD, Gardner CJ, Jordan CC, Kilpatrick GJ, Twissell DJ, and Ward P. Towards understanding the aetiology and pathophysiology of the emetic reflex: novel approaches to antiemetic drugs. *Oncology*, **53 Suppl 1**, 102-109 (1996).
90. Andrews PL and Hawthorn J. The neurophysiology of vomiting. *Baillieres Clin Gastroenterol*, **2**, 141-168 (1988).
91. Navari RM. Management of chemotherapy-induced nausea and vomiting : focus on newer agents and new uses for older agents. *Drugs*, **73**, 249-262 (2013).
92. Bloechl-Daum B, Deuson RR, Mavros P, Hansen M, and Herrstedt J. Delayed nausea and vomiting continue to reduce patients' quality of life after highly and moderately emetogenic chemotherapy despite antiemetic treatment. *J Clin Oncol*, **24**, 4472-4478 (2006).
93. Cohen L, de Moor CA, Eisenberg P, Ming EE, and Hu H. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: incidence and impact on patient quality of life at community oncology settings. *Support Care Cancer*, **15**, 497-503 (2007).
94. Tavorath R and Hesketh PJ, Drug treatment of chemotherapy-induced delayed emesis. *Drugs*, **52**, 639-648 (1996).
95. Hesketh PJ. Chemotherapy-induced nausea and vomiting. *N Engl J Med*, **358**, 2482-2494 (2008).
96. Navari RM. Antiemetic control: toward a new standard of care for emetogenic chemotherapy. *Expert Opin Pharmacother*, **10**, 629-644 (2009).

97. Watanabe Y, Okamoto M, Ishii T, Takatsuka S, Taniguchi H, Nagasaki M, and Saito A. Long-lasting anti-emetic effect of T-2328, a novel NK(1) antagonist. *J Pharmacol Sci*, **107**, 151-158 (2008).
98. Majumdar AK, Howard L, Goldberg MR, Hickey L, Constanzer M, Rothenberg PL, Crumley TM, Panebianco D, Bradstreet TE, Bergman AJ, Waldman SA, Greenberg HE, Butler K, Knops A, De Lepeleire I, Michiels N, and Petty KJ. Pharmacokinetics of aprepitant after single and multiple oral doses in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*, **46**, 291-300 (2006).
99. Rojas C, Stathis M, Thomas AG, Massuda EB, Alt J, Zhang J, Rubenstein E, Sebastiani S, Cantoreggi S, Snyder SH, and Slusher B. Palonosetron exhibits unique molecular interactions with the 5-HT₃ receptor. *Anesth Analg*, **107**, 469-478 (2008).

論文目録

本学位論文の基礎となる報文の著者名、題目、印刷・公表の方法、その時期および該当する章は以下の通り。

- 1) Takako Yoshino-Furukawa, Yasue Maeda, Aya Kikuchi, Hiroyuki Sakuma, Katsunori Imazumi, Hisashi Yamakuni, Hajime Sogabe, Masahiko Matsuo, Toshitaka Manda, and Wataru Uchida : Pharmacological properties of FK886, a new, centrally active neurokinin-1 receptor antagonist. *Biol. Pharm. Bull.*, **36**, 76-81 (2013). [第1章]
- 2) Takako Yoshino Furukawa, Hiroe Nakayama, Aya Kikuchi, Katsunori Imazumi , Hisashi Yamakuni, Hajime Sogabe, Sachiko Yamasaki, Koji Takeshita, Masahiko Matsuo, Toshitaka Manda, and Wataru Uchida : Antiemetic effects of a potent and selective neurokinin-1 receptor antagonist, FK886, on cisplatin- and apomorphine-induced emesis in dogs. *Biol. Pharm. Bull.*, **36**, 974-979 (2013). [第2章]
- 3) Takako Yoshino Furukawa, Hiroe Nakayama, Katsunori Imazumi, Hisashi Yamakuni, Koji Takeshita, Masahiko Matsuo, Toshitaka Manda, and Wataru Uchida : Antiemetic effect of a potent and selective neurokinin-1 receptor antagonist, FK886, on cisplatin-induced acute and delayed emesis in ferrets. *Biol. Pharm. Bull.*, **37**, 232-238 (2014). [第3章]

※ これらの報文中に含まれる図表は全て日本薬学会の許諾を得て転載した