

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2020/101017

発行日 令和3年9月30日(2021.9.30)

(43) 国際公開日 令和2年5月22日(2020.5.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00 ZNA	4C076
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00 111	4C084
A61P 17/04 (2006.01)	A61P 17/04	4C086
A61P 37/08 (2006.01)	A61P 37/08	4H045
A61P 21/00 (2006.01)	A61P 21/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 51 頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2020-556191 (P2020-556191)
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2019/044886
 (22) 国際出願日 令和1年11月15日(2019.11.15)
 (31) 優先権主張番号 特願2018-215017 (P2018-215017)
 (32) 優先日 平成30年11月15日(2018.11.15)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国(JP)
 (31) 優先権主張番号 特願2019-144913 (P2019-144913)
 (32) 優先日 令和1年8月6日(2019.8.6)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国(JP)

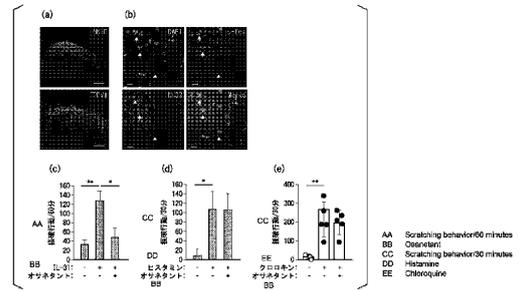
(71) 出願人 504145342
 国立大学法人九州大学
 福岡県福岡市西区元岡744
 (71) 出願人 305060567
 国立大学法人富山大学
 富山県富山市五福3190
 (74) 代理人 100106909
 弁理士 棚井 澄雄
 (74) 代理人 100149548
 弁理士 松沼 泰史
 (74) 代理人 100141139
 弁理士 及川 周
 (74) 代理人 100188558
 弁理士 飯田 雅人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL-31 介在性疾患の予防又は治療剤及び医薬組成物

(57) 【要約】

ニューロキニンBシグナル遮断剤からなる IL-31 介在性疾患の予防又は治療剤。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ニューロキニン B シグナル遮断剤からなる I L - 3 1 介在性疾患の予防又は治療剤。

【請求項 2】

前記 I L - 3 1 介在性疾患が、アトピー性皮膚炎、アトピー性皮膚炎における掻痒症、皮膚筋炎、皮膚筋炎における掻痒症、慢性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、疱疹状皮膚炎、皮膚 T 細胞性リンパ腫における掻痒症、結節性痒疹、多形慢性痒疹、色素性蕁麻疹又は水疱性類天疱瘡である、請求項 1 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 3】

前記 I L - 3 1 介在性疾患が、アトピー性皮膚炎である、請求項 1 に記載の予防又は治療剤。

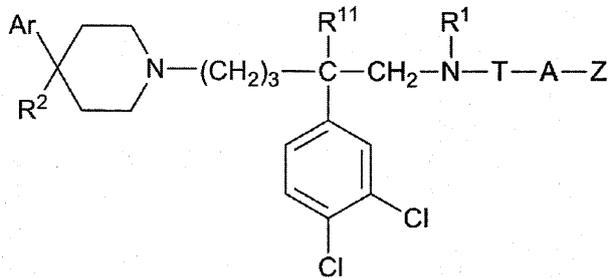
【請求項 4】

前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、ニューロキニン 3 受容体アンタゴニストである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の予防又は治療剤。

【請求項 5】

前記アンタゴニストが、下式一般式 (1)、(2) 又は (3) で表される化合物若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である、請求項 4 に記載の予防又は治療剤。

【化 1】



(1)

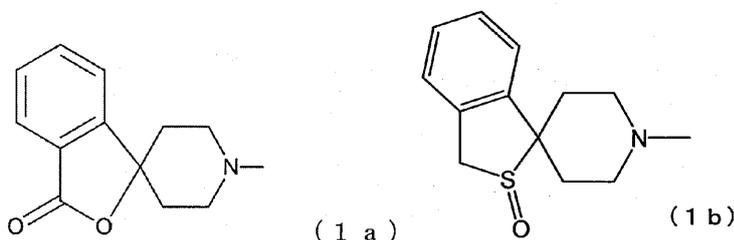
[式 (1) 中、

A r は、ピペリジニル基；ピリジン - 2 - イル基；フェニル基；又は、ハロゲン原子、メチル基若しくは炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ基で置換されたフェニル基を表し；

R ¹ はメチル基を表し；R ^{1 1} は水素原子を表すか；又は、R ¹ 及び R ^{1 1} は一緒になって - (C H ₂) ₃ - 基若しくは - (C H ₂) ₂ O - 基を表し；

R ² は、ヒドロキシル基；C ₁ - ₇ アルコキシ基；C ₁ - ₇ アシロキシ基；シアノ基；- N R ⁶ R ⁴ 基；- N R ³ C O R ⁴ 基；- N R ³ C O O R ⁸ 基；- N R ³ S O ₂ R ⁹ 基；- N R ³ C O N R ^{1 0} R ^{1 2} 基；C ₁ - ₇ アシル基；C ₁ - ₇ アルコキシカルボニル基；- C O N R ^{1 0} R ^{1 2} 基；- C H ₂ O H 基；C ₁ - ₇ アルコキシメチル基；C ₁ - ₇ アシロキシメチル基；C ₁ - ₇ アルキルアミノカルボニルオキシメチル基；- C H ₂ N R ^{1 3} R ^{1 4} 基；- C H ₂ N R ³ C O R ⁴ 基；- C H ₂ N R ³ C O O R ⁸ 基；- C H ₂ N R ³ S O ₂ R ⁹ 基；若しくは - C H ₂ N R ³ C O N R ^{1 0} R ^{1 2} 基を表すか；又は、R ² は、それが結合している炭素原子及びその隣のピペリジン環の炭素原子との間で二重結合を形成するか；又は、A r 及び R ₂ は、これらが結合しているピペリジン環と一緒に下記式 (1 a) 若しくは (1 b) で表される基を形成し；

【化 2】



(1 a)

(1 b)

10

20

30

40

50

R^3 は、水素原子又は C_{1-4} アルキル基を表し； R^4 は、水素原子、 C_{1-7} アルキル基、フェニル基、ベンジル基、ピリジル基、無置換の C_{3-7} シクロアルキル基、又は 1 以上のメチル基で置換された C_{3-7} シクロアルキル基を表すか；又は、 R^3 及び R^4 は一緒になって $-(CH_2)_n-$ 基（ここで、 n は 3 又は 4 である。）を表し；

T は、メチレン基、カルボニル基、 $-COO-$ 基、又は $-CONR^5-$ 基を表し； A は、単結合、メチレン基、エチレン基、プロピレン基、又はビニレン基を表すか；又は $-T-A-$ が $-SO_2-$ 基を表し；

Z は、フェニル基、又は、1 個以上の、ハロゲン原子、 C_{1-4} アルキル基、 C_{1-4} アルコキシ基若しくはニトロ基で置換されたフェニル基を表し；

R^5 は、水素原子又は C_{1-4} アルキル基を表し；

R^6 は、水素原子又は C_{1-7} アルキル基を表し； R^7 は、水素原子、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-7} シクロアルキルメチル基、ベンジル基又はフェニル基を表すか；又は、 R^6 及び R^7 は、これらが結合している窒素原子と一緒にあって、アゼチジン基、ピロリジン基、ピペリジン基、モルホリン基、チオモルホリン基及びペルヒドロアゼピン基からなる群より選択されるヘテロ環を構成し；

R^8 は、 C_{1-7} アルキル基又はフェニル基を表し；

R^9 は、 C_{1-7} アルキル基；アミノ基又は 1 若しくは 2 つの C_{1-7} アルキル基で置換されたアミノ基；フェニル基；ハロゲン原子、 C_{1-7} アルキル基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、 C_{1-7} アルコキシ基、カルボキシル基、 C_{1-7} アルコキシカルボニル基、 C_{1-7} アルキルカルボニルオキシ基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、及び、1 又は 2 つの C_{1-7} アルキル基で置換されたアミノ基からなる群より選択される 1 又は複数の基（ここで、選択される基が複数である場合、複数の基のそれぞれは互いに同一であっても異なってもよい。）により置換されたフェニル基を表し；

R^{10} は、水素原子又は C_{1-7} アルキル基を表し； R^{12} は、水素原子、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-7} シクロアルキル基、 C_{3-7} シクロアルキルメチル基、ヒドロキシル基、 C_{1-4} アルコキシ基、ベンジル基又はフェニル基を表すか；又は R^{10} 及び R^{12} は、これらが結合している窒素原子と一緒にあって、アゼチジン基、ピロリジン基、ピペリジン基、モルホリン基、チオモルホリン基及びペルヒドロアゼピン基からなる群より選択されるヘテロ環を構築し；

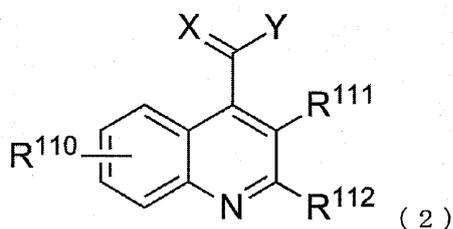
R^{13} は、水素原子又は C_{1-7} アルキル基を表し；

R^{14} は、水素原子、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-7} シクロアルキルメチル基又はベンジル基を表し；

n_3 は 2 又は 3 である。

但し、 Ar がフェニル基であり、 R^2 がヒドロキシル基であり、 $-T-A-Z$ がベンゾイル基である場合、 R^1 はメチル基ではなく； Ar がフェニル基であり、 R^2 が $-NHCOCH_3$ 基であり、 $-T-A-Z$ がベンゾイル基である場合、 R^1 及び R^{11} が一緒になって $-(CH_2)_3-$ 基を形成することはなく； Ar がフェニル基であり、 R^2 がヒドロキシル基であり、 $-T-A-Z$ が 3-メトキシベンジル基である場合、 R^1 及び R^{11} が一緒になって $-(CH_2)_3-$ 基を形成することはなく； Ar がフェニル基であり、 R^2 が $-NHCOCH_3$ 基であり、 $-T-A-Z$ がベンジルオキシカルボニル基である場合、 R^1 はメチル基ではない。]

【化 3】



[式 (2) 中：

10

20

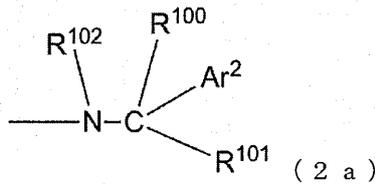
30

40

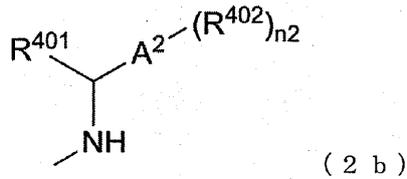
50

Y は、下記式 (2 a) 又は (2 b) で表される基であり；

【化 4】



又は



Ar² は、所望により置換されていてもよいフェニル基、ナフチル基若しくは C₅-7 シクロアルカジエニル基、又は所望により置換されていてもよい芳香族特性を有し、5~12 個の環原子を含み、硫黄原子、酸素原子及び窒素原子から選択される 4 個までのヘテロ原子を環中若しくは各環中に含む単又は縮合ヘテロ環基を表し；

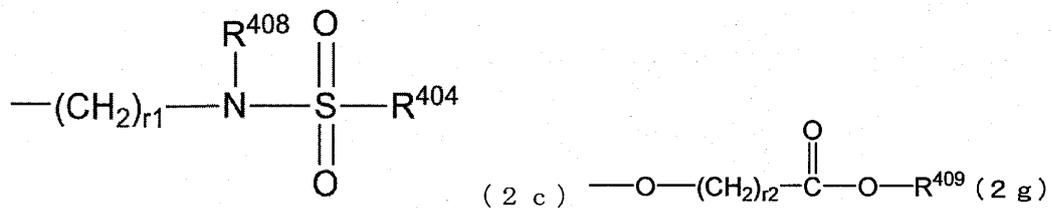
R¹⁰⁰ は、直鎖又は分岐鎖の C₁-8 アルキル基、C₃-7 シクロアルキル基、C₄-7 シクロアルキルアルキル基、所望により置換されていてもよいフェニル基又はフェニル C₁-6 アルキル基、所望により置換されていてもよい、酸素原子及び窒素原子から選択される 4 個までのヘテロ原子を含む 5 員ヘテロ芳香族環、ヒドロキシ C₁-6 アルキル基、アミノ C₁-6 アルキル基、C₁-6 アルキルアミノアルキル基、ジ C₁-6 アルキルアミノアルキル基、C₁-6 アシルアミノアルキル基、C₁-6 アルコキシアルキル基、C₁-6 アルキルカルボニル基、カルボキシ基、C₁-6 アルコキシカルボニル基、C₁-6 アルコキシカルボニル C₁-6 アルキル基、アミノカルボニル基、C₁-6 アルキルアミノカルボニル基、ジ C₁-6 アルキルアミノカルボニル基、又はハロゲン C₁-6 アルキル基を表すか；又は、Ar² に環化した場合には、基 - (CH₂)_p - (ここで、p は 2 又は 3 である。) を形成し；

R¹⁰¹ 及び R¹⁰² は、同一又は異なってもよく、独立して、水素原子、C₁-6 直鎖若しくは分岐鎖のアルキル基、又は一緒になって - (CH₂)_{n1} - 基 (ここで、n1 は 3、4 又は 5 である。) を形成するか；又は、R¹⁰¹ は R¹⁰⁰ と一緒になって基 - (CH₂)_q - (ここで、q は 2、3、4 又は 5 である。) を形成し；

R¹¹⁰ は、R¹⁰³ 又は (R⁴⁰⁵)_{q1} であり；

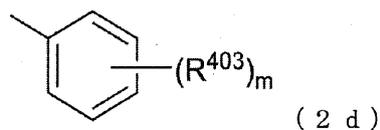
R¹¹¹ は、R¹⁰⁴ 又は下記式 (2 c) 若しくは (2 g) で表される基であり；

【化 5】



R¹¹² は、R¹⁰⁵ 又は下記式 (2 d) で表される基であり；

【化 6】



R⁴⁰¹ は、水素原子、C₁-4 アルキル基、C₃-6 シクロアルキル基及び C₁-4 アルキル OC(O)- から選ばれ；

A² は、フェニル基又は C₃-7 シクロアルキル基であり；

R⁴⁰² は各々独立して、水素原子、-OH、-NH₂、-CN、ハロゲン原子、C₁-6 アルキル基、C₃-7 シクロアルキル基、C₁-6 アルコキシ基及び C₁-6 アルコキシ C₁-6 アルキル基から選ばれ；

n2 は 1、2 又は 3 であり；

R⁴⁰³ は各々独立して、水素原子、-OH、-NH₂、-NO₂、-CN、ハロゲン

10

20

30

40

50

原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基及び C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル基から選ばれ；

m は 1、2 又は 3 であり；

r_1 は 0、1、2 又は 3 であり；

r_2 は 1、2 又は 3 であり；

R^{404} 及び R^{409} 、は C_{1-4} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル基、 C_{3-7} シクロアルキル基及び $E-(CH_2)_b-$ から選ばれ、ここで E は、 $-NR^{406}R^{407}$ 、 $-SR^{406}$ 、 $-SOC_{1-6}$ アルキル基、 $-SO_2C_{1-6}$ アルキル基、 $N^+(O^-)R^{406}R^{407}$ 、 $-NR^{406}SO_2R^{407}$ 、アリール基、及び 1、2、3 若しくは 4 個の窒素原子を有する N -若しくは C -結合 5-若しくは 6-員芳香族若しくは非芳香族の複素環式環又はその N -オキシドから選ばれ、そして b は 0、1、2、3、4 又は 5 であり；

R^{405} は各々独立して、水素原子、 $-OH$ 、 $-CN$ 、ハロゲン、 $-R^{406}$ 、 $-OR^{406}$ 、 $-NR^{406}R^{407}$ 、 $-SR^{406}$ 、 $-SOR^{406}$ 及び $-SO_2R^{406}$ から選ばれ；

q_1 は 1、2 又は 3 であり；

ここで、

R^{406} 及び R^{407} は各々独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖又は分岐鎖アルキル基、 C_{2-6} 直鎖若しくは分岐鎖アルケニル又はアルキニル基、及び 0、1 若しくは 2 個の二重又は三重結合を有する C_{3-7} 炭素環式基から選ばれ、ここで該基は非置換であるか、又は $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン原子、アリール及び C_{1-3} アルコキシ基から選ばれる 1 個若しくはそれ以上の基で置換されており；

R^{408} は、水素原子、 C_{1-5} 直鎖若しくは分岐鎖アルキル基、及び C_{3-5} シクロアルキル基から選ばれ、該基は非置換であるか、又は $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン、アリール基及び C_{1-3} アルコキシ基から選ばれる 1 個又はそれ以上の基で置換されており；

そして R^{404} が $E-(CH_2)_b-$ であり、そして該 E が N 若しくは C 結合 5-若しくは 6-員の芳香族若しくは非芳香族の複素環式環又はその N -オキシドである場合、該 E は非置換であるか、又は独立して $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン原子、 C_{1-4} アルキル基、 C_{1-4} アルコキシ基、 C_{1-4} アルキル- $CO-$ 、 $-NR^{406}R^{407}$ 、アリール及び 1、2、3 若しくは 4 個の窒素原子を有する N -若しくは C -結合 5-若しくは 6-員芳香族若しくは非芳香族の複素環式環若しくはその N -オキシドから選ばれ；

そして R^{401} 、 R^{402} 、 R^{403} 又は R^{404} がアルキル基、シクロアルキル基、アルコキシ基又はアルコシアルキル基である場合、該基は非置換であるか、又は各々独立して $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、フェニル及びハロゲンから選ばれる 1、2、3、4 若しくは 5 個の置換基を有し；

R^{103} 及び R^{104} は、同一又は異なっているにもかかわらず、独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖若しくは分岐鎖のアルキル基、 C_{1-6} アルケニル基、アリール基、 C_{1-6} アルコキシ基、ヒドロキシ基、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、カルボキシ基、カルボキシアミド基、スルホンアミド基、 C_{1-6} アルコキシカルボニル基、トリフルオロメチル基、アシルオキシ基、フタルイミド基、アミノ基、モノ-及びジ- C_{1-6} アルキルアミノ基、 $-O(CH_2)_r-NW_2$ 基（ここで、 r は 2、3 又は 4 であり、 W は水素原子又は C_{1-6} アルキル基であるか、又は、それは隣接する窒素と基；

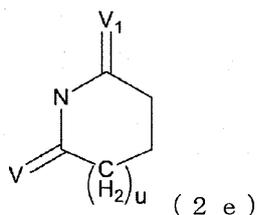
10

20

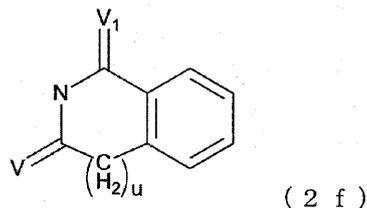
30

40

【化7】



又は

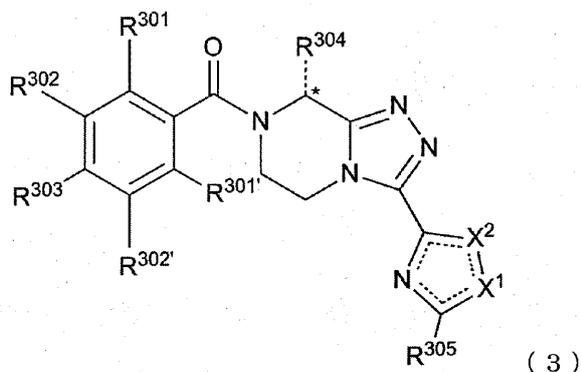


[式(2e)又は(2f)中、V及びV₁は、独立して、水素原子又は酸素原子を表し、uは0、1又は2である。]を形成する。)、-O(CH₂)_t-OE₂基(ここで、tは2、3又は4であり、Eは水素原子又はC₁₋₆アルキル基である。)、ヒドロキシアルキル基、アミノアルキル基、モノ-若しくはジ-アルキルアミノアルキル基、アシルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アミノアシルアミノ基、並びにモノ-若しくはジ-アルキルアミノアシルアミノ基から選ばれ; 4個までのR¹⁰³置換基がキノリン核中に存在し得; 又は、アリールとしてのR¹⁰⁵に環化した場合、R¹⁰⁴は-(CH₂)_e-基(ここで、eは1、2又は3である。)を形成し;

R¹⁰⁵は、分岐鎖若しくは直鎖のC₁₋₆のアルキル基、C₃₋₇のシクロアルキル基、C₄₋₇のシクロアルキルアルキル基、所望により置換されていてもよいアリール基、又は所望により置換されていてもよい芳香族特性を有し、5~12個の環原子を含み、硫黄原子、酸素原子及び窒素原子から選択される4個までのヘテロ原子を環中若しくは各環中に含む単又は縮合ヘテロ環基を表し;

Xは、酸素原子、硫黄原子又は=N-C-Nを表す。]

【化8】



[式(3)中、

R³⁰¹は、水素原子、フッ素原子又はメチル基であり、

R^{301'}は、水素原子であり、

R³⁰²は、水素原子、フッ素原子、塩素原子又はメトキシ基であり、

R^{302'}は、水素原子又はフッ素原子であり、

R³⁰³は、水素原子、フッ素原子、塩素原子、メチル基、トリフルオロメチル基又はニトリル基であり、

R³⁰⁴は、メチル、エチル、n-プロピル、ヒドロキシエチル、メトキシエチル、トリフルオロメチル、ジフルオロメチルまたはフルオロメチルであり、

R³⁰⁵は、メチル、エチル、メトキシメチル、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、フルオロメチル、1-フルオロエチル、1,1-ジフルオロエチルまたは2,2,2-トリフルオロエチルであり、

X¹が窒素原子かつX²が硫黄原子若しくは酸素原子であるか、またはX¹が硫黄原子かつX²が窒素原子であり、

【化9】

=====

10

20

30

40

50

は、 X^1 および X^2 に応じて単結合または二重結合を表し、

【化 1 0】

*

は、(3) 式の化合物の (R) - 鏡像異性体またはラセミ化合物を表す。]

【請求項 6】

前記式 (1) で表される化合物が、オサネタントである、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 7】

前記式 (1) で表される化合物が、SSR - 146977 である、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。 10

【請求項 8】

前記式 (1) で表される化合物が、SSR - 241586 である、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 9】

前記式 (1) で表される化合物が、CS - 003 である、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 10】

前記式 (2) で表される化合物が、タルネタントである、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。 20

【請求項 11】

前記式 (2) で表される化合物が、パヴィネタントである、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 12】

前記式 (2) で表される化合物が、SB - 235375 である、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 13】

前記式 (3) で表される化合物が、フェゾリネタントである、請求項 5 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 14】

前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、タキキニンプロセシング酵素の阻害剤又はタキキニンプロセシング酵素の分解促進剤である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の予防又は治療剤。 30

【請求項 15】

前記阻害剤が、Proprotein convertase subtilisin / kexin 1、Proprotein convertase subtilisin / kexin 2、carboxypeptidase E、又はPeptidylglycine alpha-amidating monooxygenase の阻害剤である、請求項 14 に記載の予防又は治療剤。

【請求項 16】

前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、ニューロキニン B (NKB)、ニューロキニン 3 受容体、タキキニンプロセシング酵素、gastrin-releasing peptide (GRP) 又は GRP 受容体の発現抑制剤である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の予防又は治療剤。 40

【請求項 17】

前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、ニューロキニン 3 受容体又は GRP 受容体を発現する神経細胞の除去剤である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の予防又は治療剤。

【請求項 18】

前記除去剤が、細胞毒性物質を結合した、GRP、GRP 受容体に対する特異的結合物 50

質、NK B又はニューロキニン3受容体に対する特異的結合物質である、請求項17に記載の予防又は治療剤。

【請求項19】

前記細胞毒性物質が、リボソーム不活性化タンパク質又はジフテリア毒素である、請求項18に記載の予防又は治療剤。

【請求項20】

前記リボソーム不活性化タンパク質が、サボリン、リシン又はアブリンである、請求項19に記載の予防又は治療剤。

【請求項21】

請求項1～20のいずれか一項に記載の予防又は治療剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、IL-31介在性疾患の予防又は治療用医薬組成物。

10

【請求項22】

請求項1～20のいずれか一項に記載の予防又は治療剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、アトピー性皮膚炎の予防又は治療用医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、IL-31介在性疾患の予防又は治療剤及び医薬組成物に関する。

本願は、2018年11月15日に日本に出願された特願2018-215017号、及び、2019年8月6日に日本に出願された特願2019-144913号に基づき優先権を主張し、それらの内容をここに援用する。

20

【背景技術】

【0002】

Interleukin-31 (IL-31)は、種々のヒト組織で発現するサイトカインであり、アトピー性皮膚炎等の慢性皮膚掻痒症と関連することが報告されている(例えば、非特許文献1及び2を参照)。

【0003】

アトピー性皮膚炎とは、痒みのある湿疹が悪化と軽快を繰り返す慢性疾患である。その患者の多くは、アレルゲンに対する反応が亢進している。近年、アトピー性皮膚炎の患者数は増加しており、また、アトピー性皮膚炎は著しく患者の生活の質を損なうことから、アトピー性皮膚炎の治療方法の開発は急務となっている。

30

【0004】

さらに、マウスの皮内にIL-31を投与すると、搔破行動が引き起こされる。マウスの搔破行動は、アトピー性皮膚炎における、痒みにより引き起こされる搔破行動のモデルとして利用することができる。

【0005】

アトピー性皮膚炎の重症度は、血清IL-31のレベルと相関することが知られている。また、抗IL-31受容体抗体の投与は、アトピー性皮膚炎の痒みを抑制することが報告された。これらの知見から、アトピー性皮膚炎において、痒みを引き起こす原因物質は、IL-31であると考えられている。

40

【0006】

また、IL-31は、搔痒の誘発以外にも、他の炎症性サイトカインの発現を誘導することにより、様々な疾患の病態に介在することも報告されている。IL-31が介在する疾患として、アトピー性皮膚炎、アトピー性皮膚炎における掻痒症、皮膚筋炎、皮膚筋炎における掻痒症、慢性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、疱疹状皮膚炎、皮膚T細胞性リンパ腫における掻痒症、結節性痒疹、多形慢性痒疹、色素性蕁麻疹及び水疱性類天疱瘡等が報告されている(例えば、非特許文献1～8を参照)。皮膚筋炎は、皮疹を伴う自己免疫性の炎症性筋疾患であり、皮膚症状の重症度と痒みが相関し、痒みを伴う病変皮膚では、IL-31及びIL-31受容体の発現が亢進していることが報告されている(非特許文献3)。皮膚T細胞性リンパ腫(cutaneous T cell lymphom

50

a ; C T C L) は、皮膚に生じる悪性リンパ腫の一群であり、腫瘍の由来となる細胞が T 細胞である疾患である。C T C L では、疾患の進行度及び掻痒症の重症度が、病変皮膚における I L - 3 1 及び I L - 3 1 受容体の発現量及び血清 I L - 3 1 のレベルと相関することが報告されている (非特許文献 4) 。結節性痒疹及びアレルギー性接触皮膚炎では、皮膚組織において I L - 3 1 の発現亢進が認められること (非特許文献 5 及び 6) 、また、色素性蕁麻疹では、血清 I L - 3 1 レベルが、疾患重症度及び掻痒症と相関することが報告されている (非特許文献 7) 。さらに、疱疹状皮膚炎患者及び水疱性類天疱瘡患者では、血清及び組織における I L - 3 1 レベルが増していること、また、これらの患者の病変部位の皮膚組織において、I L - 3 1 陽性細胞が多数認められることが報告されている (非特許文献 8) 。

10

【 0 0 0 7 】

発明者らは、以前に、D e d i c a t o r o f c y t o k i n e s i s 8 (D o c k 8) 遺伝子を欠損し、再編成した T 細胞受容体 (T C R) が遺伝子導入されたマウスにおいて、C D 4 + T 細胞からの I L - 3 1 の産生が亢進することを明らかにした (例えば、非特許文献 9 を参照) 。

【 0 0 0 8 】

ここで、再編成した T C R としては、A N D を利用することができる。A N D は、M H C クラス I I I - E 分子と複合体を形成した、m o t h c y t o c h r o m e (M C C) の第 8 8 番目 ~ 1 0 3 番目のアミノ酸からなるペプチド (配列番号 1) を認識する T C R である。一方、A N D を発現した T 細胞は、I - A b 分子を発現するマウス胸線において正常に分化・成熟するが、A N D T C R は I - A b 分子に対して、比較的高い自己反応性を示す。

20

【 0 0 0 9 】

I - A b 分子を発現する C 5 7 B L / 6 マウスの遺伝背景において、D o c k 8 ノックアウト A N D トランスジェニック (D o c k 8 - / - A N D T g) マウスは、亢進した掻破行動及び皮膚炎の症状を示す。このことから、D o c k 8 - / - A N D T g マウスは、アトピー性皮膚炎等の I L - 3 1 介在性疾患モデル非ヒト動物として用いることができる。

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

30

【 0 0 1 0 】

【 非特許文献 1 】 Furue M, et al. Emerging role of interleukin-31 and interleukin-31 receptor in pruritus in atopic dermatitis. *Allergy* 73:29-36, 2018.

【 非特許文献 2 】 Bagci IS, Ruzicka T. IL-31: A new key player in dermatology and beyond. *J Allergy Clin Immunol.* 141:858-866, 2018.

【 非特許文献 3 】 Kim HJ, et al. Itch in dermatomyositis: the role of increased skin interleukin-31. *Br J Dermatol.* 179:669-678, 2018.

【 非特許文献 4 】 Nattkemper LA. et al. Cutaneous T-cell Lymphoma and Pruritus: The Expression of IL-31 and its Receptors in the Skin. *Acta Derm Venereol.* 96:894-898, 2016.

40

【 非特許文献 5 】 Sonkoly E, et al. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 117:411-417, 2006.

【 非特許文献 6 】 Neis MM, et al. Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 118:930-937, 2006.

【 非特許文献 7 】 Lange M, et al. Interleukin-31 polymorphisms and serum IL-31 level in patients with mastocytosis: correlation with clinical presentation and pruritus. *Acta Derm Venereol.* 97:47-53, 2017.

【 非特許文献 8 】 Bonciani D, et al. Serum levels and tissue expression of interleukin-31 in dermatitis herpetiformis and bullous pemphigoid. *J Dermatol Sci.* 87:2

50

10-212, 2017.

【非特許文献 9】Yamamura K et al., The transcription factor EPAS1 links DOCK 8 d efficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction. Nature Communications 8:13946, 2017.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

このように、IL-31は、アトピー性皮膚炎等の炎症性疾患における、痒みを引き起こす代表的な因子であると考えられる。しかしながら、IL-31が痒みを引き起こすメカニズムについては十分に説明されているとはいえない。そこで、本発明は、IL-31が痒みを引き起こす分子機構を明らかにし、アトピー性皮膚炎等のIL-31介在性疾患を予防又は治療する技術を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明は、以下の態様を含む。

[1] ニューロキニンBシグナル遮断剤からなるIL-31介在性疾患の予防又は治療剤。

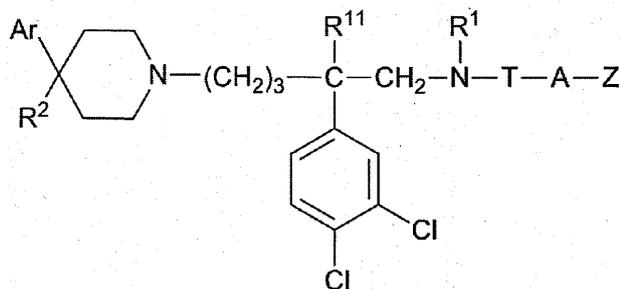
[2] 前記IL-31介在性疾患が、アトピー性皮膚炎、アトピー性皮膚炎における掻痒症、皮膚筋炎、皮膚筋炎における掻痒症、慢性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、疱疹状皮膚炎、皮膚T細胞性リンパ腫における掻痒症、結節性痒疹、多形慢性痒疹、色素性蕁麻疹又は水疱性類天疱瘡である、[1]に記載の予防又は治療剤。

[3] 前記IL-31介在性疾患が、アトピー性皮膚炎である、[1]に記載の予防又は治療剤。

[4] 前記ニューロキニンBシグナル遮断剤が、ニューロキニン3受容体アンタゴニストである、[1]～[3]のいずれかに記載の予防又は治療剤。

[5] 前記アンタゴニストが、下式一般式(1)、(2)又は(3)で表される化合物若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である、[4]に記載の予防又は治療剤。

【化1】



[式(1)中、

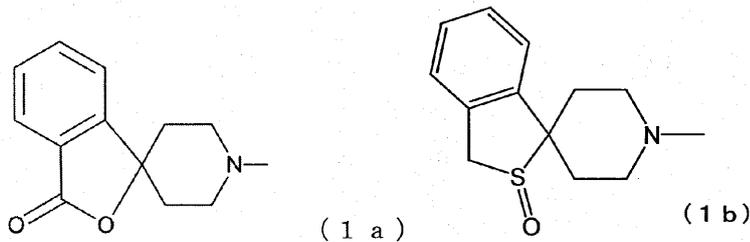
Arは、ピペリジニル基；ピリジン-2-イル基；フェニル基；又は、ハロゲン原子、メチル基若しくは炭素数1～4のアルコキシ基で置換されたフェニル基を表し；

R¹はメチル基を表し；R¹¹は水素原子を表すか；又は、R¹及びR¹¹は一緒になって-(CH₂)₃-基若しくは-(CH₂)₂O-基を表し；

R²は、ヒドロキシル基；C₁-₇アルコキシ基；C₁-₇アシロキシ基；シアノ基；-NR⁶R⁴基；-NR³COR⁴基；-NR³COOR⁸基；-NR³SO₂R⁹基；-NR³CONR¹⁰R¹²基；C₁-₇アシル基；C₁-₇アルコキシカルボニル基；-CONR¹⁰R¹²基；-CH₂OH基；C₁-₇アルコキシメチル基；C₁-₇アシロキシメチル基；C₁-₇アルキルアミノカルボニルオキシメチル基；-CH₂NR¹³R¹⁴基；-CH₂NR³COR⁴基；-CH₂NR³COOR⁸基；-CH₂NR³SO₂R⁹基；若しくは-CH₂NR³CONR¹⁰R¹²基を表すか；又は、R²は、それが結合している炭素原子及びその隣のピペリジン環の炭素原子との間で二重結合を形成

するか；又は、Ar及びR²は、これらが結合しているピペリジン環と一緒に下記式(1a)若しくは(1b)で表される基を形成し；

【化2】



R³は、水素原子又はC₁-₄アルキル基を表し；R⁴は、水素原子、C₁-₇アルキル基、フェニル基、ベンジル基、ピリジル基、無置換のC₃-₇シクロアルキル基、又は1以上のメチル基で置換されたC₃-₇シクロアルキル基を表すか；又は、R³及びR⁴は一緒になって-(CH₂)_n-基(ここで、nは3又は4である。)を表し；

Tは、メチレン基、カルボニル基、-COO-基、又は-CONR⁵-基を表し；Aは、単結合、メチレン基、エチレン基、プロピレン基、又はビニレン基を表すか；又は-T-A-が-SO₂-基を表し；

Zは、フェニル基、又は、1個以上の、ハロゲン原子、C₁-₄アルキル基、C₁-₄アルコキシ基若しくはニトロ基で置換されたフェニル基を表し；

R⁵は、水素原子又はC₁-₄アルキル基を表し；

R⁶は、水素原子又はC₁-₇アルキル基を表し；R⁷は、水素原子、C₁-₇アルキル基、C₃-₇シクロアルキルメチル基、ベンジル基又はフェニル基を表すか；又は、R⁶及びR⁷は、これらが結合している窒素原子と一緒に、アゼチジン基、ピロリジン基、ピペリジン基、モルホリン基、チオモルホリン基及びペルヒドロアゼピン基からなる群より選択されるヘテロ環を構成し；

R⁸は、C₁-₇アルキル基又はフェニル基を表し；

R⁹は、C₁-₇アルキル基；アミノ基又は1若しくは2つのC₁-₇アルキル基で置換されたアミノ基；フェニル基；ハロゲン原子、C₁-₇アルキル基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、C₁-₇アルコキシ基、カルボキシル基、C₁-₇アルコキシカルボニル基、C₁-₇アルキルカルボニルオキシ基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、及び、1又は2つのC₁-₇アルキル基で置換されたアミノ基からなる群より選択される1又は複数の基(ここで、選択される基が複数である場合、複数の基のそれぞれは互いに同一であっても異なってもよい。)により置換されたフェニル基を表し；

R¹⁰は、水素原子又はC₁-₇アルキル基を表し；R¹²は、水素原子、C₁-₇アルキル基、C₃-₇シクロアルキル基、C₃-₇シクロアルキルメチル基、ヒドロキシル基、C₁-₄アルコキシ基、ベンジル基又はフェニル基を表すか；又はR¹⁰及びR¹²は、これらが結合している窒素原子と一緒に、アゼチジン基、ピロリジン基、ピペリジン基、モルホリン基、チオモルホリン基及びペルヒドロアゼピン基からなる群より選択されるヘテロ環を構築し；

R¹³は、水素原子又はC₁-₇アルキル基を表し；

R¹⁴は、水素原子、C₁-₇アルキル基、C₃-₇シクロアルキルメチル基又はベンジル基を表し；

n₃は2又は3である。

但し、Arがフェニル基であり、R²がヒドロキシル基であり、-T-A-Zがベンゾイル基である場合、R¹はメチル基ではなく；Arがフェニル基であり、R²が-NHCOCH₃基であり、-T-A-Zがベンゾイル基である場合、R¹及びR¹¹が一緒になって-(CH₂)₃-基を形成することはなく；Arがフェニル基であり、R²がヒドロキシル基であり、-T-A-Zが3-メトキシベンジル基である場合、R¹及びR¹¹が一緒になって-(CH₂)₃-基を形成することはなく；Arがフェニル基であり、R²が-NHCOCH₃基であり、-T-A-Zがベンジルオキシカルボニル基である場合、

10

20

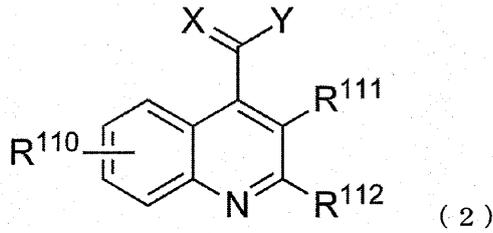
30

40

50

R¹ はメチル基ではない。]

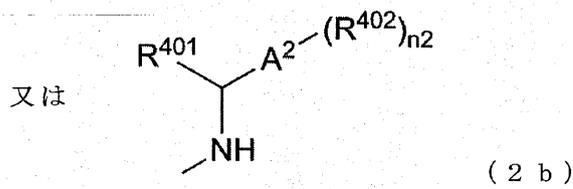
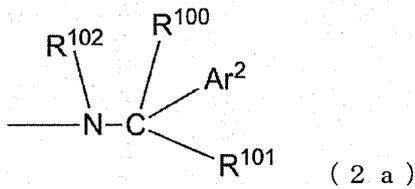
【化3】



[式(2)中:

Yは、下記式(2a)又は(2b)で表される基であり;

【化4】



Ar²は、所望により置換されていてもよいフェニル基、ナフチル基若しくはC₅-7シクロアルカジエニル基、又は所望により置換されていてもよい芳香族特性を有し、5~12個の環原子を含み、硫黄原子、酸素原子及び窒素原子から選択される4個までのヘテロ原子を環中若しくは各環中に含む単又は縮合ヘテロ環基を表し;

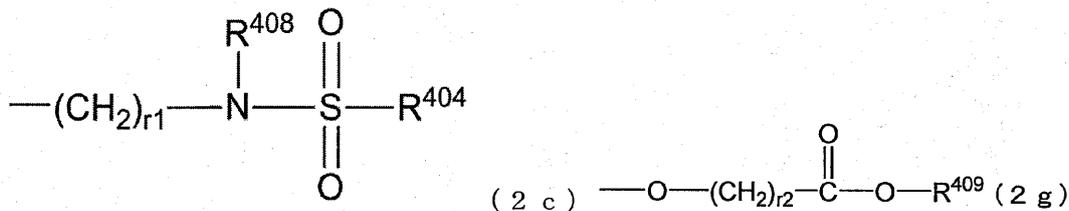
R¹⁰⁰は、直鎖又は分岐鎖のC₁-8アルキル基、C₃-7シクロアルキル基、C₄-7シクロアルキルアルキル基、所望により置換されていてもよいフェニル基又はフェニルC₁-6アルキル基、所望により置換されていてもよい、酸素原子及び窒素原子から選択される4個までのヘテロ原子を含む5員ヘテロ芳香族環、ヒドロキシC₁-6アルキル基、アミノC₁-6アルキル基、C₁-6アルキルアミノアルキル基、ジC₁-6アルキルアミノアルキル基、C₁-6アシルアミノアルキル基、C₁-6アルコキシアルキル基、C₁-6アルキルカルボニル基、カルボキシ基、C₁-6アルコキシカルボニル基、C₁-6アルコキシカルボニルC₁-6アルキル基、アミノカルボニル基、C₁-6アルキルアミノカルボニル基、ジC₁-6アルキルアミノカルボニル基、又はハロゲンC₁-6アルキル基を表すか;又は、Ar²に環化した場合には、基-(CH₂)_p- (ここで、pは2又は3である。)を形成し;

R¹⁰¹及びR¹⁰²は、同一又は異なってもよく、独立して、水素原子、C₁-6直鎖若しくは分岐鎖のアルキル基、又は一緒になって-(CH₂)_{n1}-基(ここで、n1は3、4又は5である。)を形成するか;又は、R¹⁰¹はR¹⁰⁰と一緒に形成し;

R¹¹⁰は、R¹⁰³又は(R⁴⁰⁵)_{q1}であり;

R¹¹¹は、R¹⁰⁴又は下記式(2c)若しくは(2g)で表される基であり;

【化5】



R¹¹²は、R¹⁰⁵又は下記式(2d)で表される基であり;

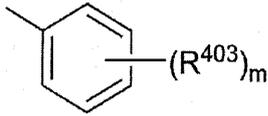
10

20

30

40

【化6】



R^{401} は、水素原子、 C_{1-4} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基及び C_{1-4} アルキル $O(C)-$ から選ばれ；

A^2 は、フェニル基又は C_{3-7} シクロアルキル基であり；

R^{402} は各々独立して、水素原子、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-7} シクロアルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基及び C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル基から選ばれ；

n_2 は 1、2 又は 3 であり；

R^{403} は各々独立して、水素原子、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基及び C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル基から選ばれ；

m は 1、2 又は 3 であり；

r_1 は 0、1、2 又は 3 であり；

r_2 は 1、2 又は 3 であり；

R^{404} 及び R^{409} は、 C_{1-4} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル基、 C_{3-7} シクロアルキル基及び $E-(CH_2)_b-$ から選ばれ、ここで E は、 $-NR^{406}$ 、 R^{407} 、 $-SR^{406}$ 、 $-SOC_{1-6}$ アルキル基、 $-SO_2C_{1-6}$ アルキル基、 $N^+(O^-)R^{406}R^{407}$ 、 $-NR^{406}SO_2R^{407}$ 、アリール基、及び 1、2、3 若しくは 4 個の窒素原子を有する $N-$ 若しくは $C-$ 結合 5 - 若しくは 6 - 員芳香族若しくは非芳香族の複素環式環又はその $N-$ オキシドから選ばれ、そして b は 0、1、2、3、4 又は 5 であり；

R^{405} は各々独立して、水素原子、 $-OH$ 、 $-CN$ 、ハロゲン、 $-R^{406}$ 、 $-OR^{406}$ 、 $-NR^{406}R^{407}$ 、 $-SR^{406}$ 、 $-SOR^{406}$ 及び $-SO_2R^{406}$ から選ばれ；

q_1 は 1、2 又は 3 であり；

ここで、

R^{406} 及び R^{407} は各々独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖又は分岐鎖アルキル基、 C_{2-6} 直鎖若しくは分岐鎖アルケニル又はアルキニル基、及び 0、1 若しくは 2 個の二重又は三重結合を有する C_{3-7} 炭素環式基から選ばれ、ここで該基は非置換であるか、又は $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン原子、アリール及び C_{1-3} アルコキシ基から選ばれる 1 個若しくはそれ以上の基で置換されており；

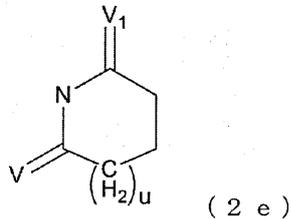
R^{408} は、水素原子、 C_{1-5} 直鎖若しくは分岐鎖アルキル基、及び C_{3-5} シクロアルキル基から選ばれ、該基は非置換であるか、又は $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン、アリール基及び C_{1-3} アルコキシ基から選ばれる 1 個又はそれ以上の基で置換されており；

そして R^{404} が $E-(CH_2)_b-$ であり、そして該 E が N 若しくは C 結合 5 - 若しくは 6 - 員の芳香族若しくは非芳香族の複素環式環又はその $N-$ オキシドである場合、該 E は非置換であるか、又は独立して $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、ハロゲン原子、 C_{1-4} アルキル基、 C_{1-4} アルコキシ基、 C_{1-4} アルキル $-CO-$ 、 $-NR^{406}R^{407}$ 、アリール及び 1、2、3 若しくは 4 個の窒素原子を有する $N-$ 若しくは $C-$ 結合 5 - 若しくは 6 - 員芳香族若しくは非芳香族の複素環式環若しくはその $N-$ オキシドから選ばれ；

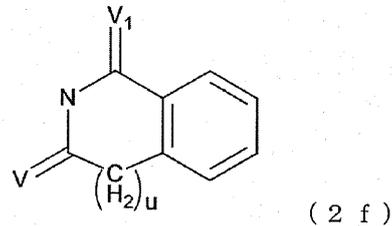
そして R^{401} 、 R^{402} 、 R^{403} 又は R^{404} がアルキル基、シクロアルキル基、アルコキシ基又はアルコキシアルキル基である場合、該基は非置換であるか、又は各々独立して $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、フェニル及びハロゲンから選ばれる 1、2、3、4 若しくは 5 個の置換基を有し；

R^{103} 及び R^{104} は、同一又は異なってもよく、独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖若しくは分岐鎖のアルキル基、 C_{1-6} アルケニル基、アリール基、 C_{1-6} アルコキシ基、ヒドロキシ基、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、カルボキシ基、カルボキシアミド基、スルホンアミド基、 C_{1-6} アルコキシカルボニル基、トリフルオロメチル基、アシルオキシ基、フタルイミド基、アミノ基、モノ-及びジ- C_{1-6} アルキルアミノ基、 $-O(CH_2)_r-NW_2$ 基（ここで、 r は 2、3 又は 4 であり、 W は水素原子又は C_{1-6} アルキル基であるか、又は、それは隣接する窒素と基：

【化 7】



又は



10

[式 (2 e) 又は (2 f) 中、 V 及び V_1 は、独立して、水素原子又は酸素原子を表し、 u は 0、1 又は 2 である。] を形成する。)、 $-O(CH_2)_t-OE_2$ 基（ここで、 t は 2、3 又は 4 であり、 E は水素原子又は C_{1-6} アルキル基である。)、ヒドロシアルキル基、アミノアルキル基、モノ-若しくはジ-アルキルアミノアルキル基、アシルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アミノアシルアミノ基、並びにモノ-若しくはジ-アルキルアミノアシルアミノ基から選ばれ；4 個までの R^{103} 置換基がキノリン核中に存在し得；又は、アリールとしての R^{105} に環化した場合、 R^{104} は $-(CH_2)_e-$ 基（ここで、 e は 1、2 又は 3 である。）を形成し；

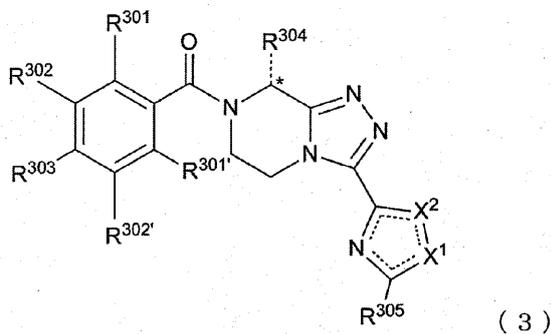
20

R^{105} は、分岐鎖若しくは直鎖の C_{1-6} のアルキル基、 C_{3-7} のシクロアルキル基、 C_{4-7} のシクロアルキルアルキル基、所望により置換されていてもよいアリール基、又は所望により置換されていてもよい芳香族特性を有し、5 ~ 12 個の環原子を含み、硫黄原子、酸素原子及び窒素原子から選択される 4 個までのヘテロ原子を環中若しくは各環中に含む単又は縮合ヘテロ環基を表し；

X は、酸素原子、硫黄原子又は $=N-C-N$ を表す。]

30

【化 8】



40

[式 (3) 中、

R^{301} は、水素原子、フッ素原子又はメチル基であり、

$R^{301'}$ は、水素原子であり、

R^{302} は、水素原子、フッ素原子、塩素原子又はメトキシ基であり、

$R^{302'}$ は、水素原子又はフッ素原子であり、

R^{303} は、水素原子、フッ素原子、塩素原子、メチル基、トリフルオロメチル基又はニトリル基であり、

R^{304} は、メチル、エチル、 n -プロピル、ヒドロキシエチル、メトキシエチル、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル又はフルオロメチルであり、

R^{305} は、メチル、エチル、メトキシメチル、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、フルオロメチル、1-フルオロエチル、1,1-ジフルオロエチル又は 2,2,2-ト

50

リフルオロエチルであり、

X^1 が窒素原子かつ X^2 が硫黄原子若しくは酸素原子であるか、又は X^1 が硫黄原子かつ X^2 が窒素原子であり、

【化 9】

は、 X^1 および X^2 に応じて単結合又は二重結合を表し、

【化 10】

*

は、(3) 式の化合物の (R) - 鏡像異性体又はラセミ化合物を表す。]

[6] 前記式 (1) で表される化合物が、オサネタントである、[5] に記載の予防又は治療剤。

[7] 前記式 (1) で表される化合物が、SSR - 146977 である、[5] に記載の予防又は治療剤。

[8] 前記式 (1) で表される化合物が、SSR - 241586 である、[5] に記載の予防又は治療剤。

[9] 前記式 (1) で表される化合物が、CS - 003 である、[5] に記載の予防又は治療剤。

[10] 前記式 (2) で表される化合物が、タルネタントである、[5] に記載の予防又は治療剤。

[11] 前記式 (2) で表される化合物が、パヴィネタントである、[5] に記載の予防又は治療剤。

[12] 前記式 (2) で表される化合物が、SB - 235375 である、[5] に記載の予防又は治療剤。

[13] 前記式 (3) で表される化合物が、フェゾリネタントである、[5] に記載の予防又は治療剤。

[14] 前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、タキキニンプロセシング酵素の阻害剤又はタキキニンプロセシング酵素の分解促進剤である、[1] ~ [3] のいずれかに記載の予防又は治療剤。

[15] 前記阻害剤が、Proprotein convertase subtilisin/kexin 1、Proprotein convertase subtilisin/kexin 2、carboxypeptidase E、又はPeptidyl-glycine alpha-amidating monooxygenase の阻害剤である、[14] に記載の予防又は治療剤。

[16] 前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、ニューロキニン B (NKB)、ニューロキニン 3 受容体、タキキニンプロセシング酵素、gastrin-releasing peptide (GRP) 又は GRP 受容体の発現抑制剤である、[1] ~ [3] のいずれかに記載の予防又は治療剤。

[17] 前記ニューロキニン B シグナル遮断剤が、ニューロキニン 3 受容体又は GRP 受容体を発現する神経細胞の除去剤である、[1] ~ [3] のいずれかに記載の予防又は治療剤。

[18] 前記除去剤が、細胞毒性物質を結合した、GRP、GRP 受容体に対する特異的結合物質、NKB 又はニューロキニン 3 受容体に対する特異的結合物質である、[17] に記載の予防又は治療剤。

[19] 前記細胞毒性物質が、リボソーム不活性化タンパク質又はジフテリア毒素である、[18] に記載の予防又は治療剤。

[20] 前記リボソーム不活性化タンパク質が、サボリン、リシン又はアブリンである、[19] に記載の予防又は治療剤。

10

20

30

40

50

[2 1] [1] ~ [2 0] のいずれかに記載の予防又は治療剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、IL - 3 1 介在性疾患の予防又は治療用医薬組成物。

[2 2] [1] ~ [2 0] のいずれかに記載の予防又は治療剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、アトピー性皮膚炎の予防又は治療用医薬組成物。

【発明の効果】

【 0 0 1 3 】

本発明によれば、アトピー性皮膚炎等のIL - 3 1 介在性疾患を予防又は治療する技術を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 4 】

10

【図1】(a)は、実験例1における、gastrin-releasing peptide (GRP) - サポリン又はnatriuretic polypeptide b (Nppb) - サポリンを、それぞれ野生型C57BL/6マウスの髄腔へ注射した後、IL - 3 1 をこれらマウスに投与し、これらマウスの搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例1における、GRP - サポリンを、野生型C57BL/6マウスの髄腔へ注射した後、脊髄におけるGRP mRNAの発現量を解析した結果である。(c)は、実験例1における、Nppb - サポリンを、野生型C57BL/6マウスの髄腔へ注射した後、脊髄におけるNPR A のmRNAの発現量を解析した結果である。(d)は、実験例1における、GRP - サポリン又はNppb - サポリンを野生型C57BL/6マウスの髄腔へ注射した後、脊髄を摘出し、抗GRP抗体及び抗NPR A 抗体を用いて免疫染色した結果である。

20

【図2】(a)は、実験例2における、野生型C57BL/6マウスのIL - 3 1 遺伝子の構造、ターゲティングベクターの構造、相同組換えによりneoカセットを挿入した後の遺伝子構造及びフリッパーゼによりneoカセットが除去された後の構造を示した図である。(b)は、実験例2における、各PCR産物を2%のアガロースゲルにより電気泳動した図である。野生型C57BL/6マウスのゲノムを鋳型としたPCR産物の長さは300bpであり、ノックインマウスのゲノムを鋳型としたPCR産物の長さは550塩基対である。

【図3】(a)は、実験例3における、ヘマトキシリン染色により、各遺伝子型のマウスの皮膚組織を解析した図である。(b)は、実験例3における、各遺伝子型のマウスの搔破行動を解析した図である。(c)は、実験例3における、各遺伝子型のマウスの血清中のIL - 3 1 の濃度を解析した結果である。(d)は、実験例3における、各遺伝子型のマウスの後根神経節(DRG)における、Tac2のmRNAの発現量を解析した結果である。

30

【図4】(a)は、実験例4における、DRG神経細胞をIL - 3 1 で刺激後、各遺伝子のmRNAの発現量を解析した結果である。(b)は、実験例4における、DRG神経細胞をNK Bで刺激後、各遺伝子の発現量を解析した結果である。

【図5】実験例5における、Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおける、抗NK B抗体及び抗IL - 3 1 RA抗体による免疫染色の結果である。(b)は、実験例5における、Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおける、抗NK B抗体及び抗TRPV1抗体による免疫染色の結果である。

40

【図6】(a)は、実験例6における、マウスTac2遺伝子と、それにコードされるNK Bタンパク質とを模式的に示した図である。(b)は、実験例6における、PCRと電気泳動により、Tac2遺伝子変異マウス4及び15のTac2遺伝子型を判別した図である。(c)は、実験例6における、2種の変異のゲノム配列と、転写されたmRNAがコードするアミノ酸配列を示した図である。

【図7】(a)は、実験例7における、Tac2^{-/-} (4)マウスに対してヒスタミンを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例7における、Tac2^{-/-} (4)マウスに対してクロロキンを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。(c)は、実験例7における、Tac2^{-/-} (4)マウスに対してPAR2

50

アゴニストを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。(d)は、実験例7における、T a c 2^{-/-} (4)マウスに対してI L - 3 1を投与した後の、搔破行動を解析した結果である。

【図8】(a)は、実験例7における、T a c 2^{-/-} (15)マウスに対してヒスタミンを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例7における、T a c 2^{-/-} (15)マウスに対してI L - 3 1を投与した後の、搔破行動を解析した結果である。

【図9】実験例7における、T a cを発現した、又はT a cを発現しない(T a c 2^{-/-} (4)) D o c k 8^{-/-} A N D T gマウスを樹立し、(a)は皮膚の組織を、(b)は搔破行動を、(c)は血清中のI L - 3 1レベルを比較した結果である。

【図10】(a)は、実験例8における、T a c 2^{-/-} (4)マウスに対してN K Bを髄腔内に注射し、搔破行動を解析した結果を示す。(b)は、実験例8における、G R P - サポリン又はN p p b - サポリンを注射し、G R P R又はN P R Aを発現する神経細胞を除去した後、N K Bを注射し、搔破行動を解析した結果を示す。

【図11】(a)は、実験例9における、脊髄後角を、抗N K 3 R抗体および抗T R P V 1抗体により免疫染色した結果である。(b)は、実験例9における、I L - 3 1をC 5 7 B L / 6マウスに投与した後、抗N K 3 R抗体および抗c - f o s抗体で免疫染色した結果である。(c)は、実験例9における、オサネタント注射後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(d)は、実験例9における、オサネタント注射後にヒスタミンを投与し、搔破行動を解析した結果である。(e)は、実験例9における、オサネタント注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の白丸及び黒丸は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図12】(a)は、実験例9における、フェゾリネタント投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、フェゾリネタント投与後にヒスタミンを投与し、搔破行動を解析した結果である。(c)は、実験例9における、フェゾリネタント投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の白丸及び黒丸は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図13】(a)は、実験例9における、タルネタント投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、タルネタント投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の黒丸、黒四角及び黒三角は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図14】(a)は、実験例9における、パヴィネタント投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、パヴィネタント投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の黒丸、黒四角及び黒三角は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図15】(a)は、実験例9における、S S R - 1 4 6 9 7 7投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、S S R - 1 4 6 9 7 7投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の黒丸、黒四角及び黒三角は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図16】(a)は、実験例9における、S S R - 2 4 1 5 8 6投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、S S R - 2 4 1 5 8 6投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の黒丸、黒四角及び黒三角は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図17】(a)は、実験例9における、C S - 0 0 3投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、C S - 0 0 3投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の黒丸、黒四角及び黒三角は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【図18】(a)は、実験例9における、S B - 2 3 5 3 7 5投与後にI L - 3 1を投与し、搔破行動を解析した結果である。(b)は、実験例9における、S B - 2 3 5 3 7 5投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果である。図中の黒丸、黒四角及び

10

20

30

40

50

黒三角は、各マウスにおける測定値をプロットしたものである。

【発明を実施するための形態】

【0015】

[予防又は治療剤]

1実施形態において、本発明は、ニューロキニンBシグナル遮断剤からなるIL-31介在性疾患の予防又は治療剤を提供する。1実施形態において、本発明は、ニューロキニンBシグナル遮断剤を有効成分とする、IL-31介在性疾患の予防又は治療剤を提供することもできる。

【0016】

(IL-31介在性疾患)

本発明においてIL-31介在性疾患とは、IL-31が疾患の発症又は疾患の進展に關与する疾患である。IL-31介在性とは、IL-31の直接的な作用により、疾患の発症又は疾患の進展に關与する場合だけではなく、IL-31が体組織又は体細胞に作用した結果、新たに生体分子が産生、発現若しくは遊離又は活性化され、該生体分子により疾患が発症又は進展する場合も含まれる。

10

【0017】

IL-31介在性疾患としては、例えば、アトピー性皮膚炎、アトピー性皮膚炎における掻痒症、皮膚筋炎、皮膚筋炎における掻痒症、慢性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、疱疹状皮膚炎、皮膚T細胞性リンパ腫における掻痒症、結節性痒疹、多形慢性痒疹、色素性蕁麻疹および水疱性類天疱瘡等が挙げられるが、これらに限定されない。これらの疾患においては、病変組織においてIL-31及びIL-31受容体の発現が亢進すること、血清IL-31のレベルが健常人より高いこと、またこれらの現象が疾患症状と關与することが報告されている。

20

【0018】

IL-31介在性疾患は、生体内におけるIL-31の産生を抑制することにより、また、IL-31の産生後ではIL-31の作用を打ち消すことにより、該疾患又は該疾患に伴う症状の予防又は治療が可能となる。IL-31の作用は、IL-31とIL-31受容体との結合により細胞内に刺激が伝達されることにより発揮される。そのため、IL-31とIL-31受容体との結合を阻害することにより、IL-31の作用を打ち消すことができる。そのためには、例えば、抗IL-31抗体又は抗IL-31受容体抗体を使用することができる。IL-31受容体は、IL-31受容体AとオンコスタチンM受容体とのヘテロダイマーを形成することにより機能するが、抗IL-31受容体A抗体は、アトピー性皮膚炎およびアトピー性皮膚炎における掻痒症を抑制することが報告されている(Kabashima K, et al. Nemolizumab in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis: Randomized, phase II, long-term extension study. J Allergy Clin Immunol. 142:1121-1130, 2018)。

30

【0019】

IL-31の作用を打ち消すためには、IL-31受容体刺激により、IL-31介在性疾患に關与する生体分子の産生、発現若しくは遊離又は活性化を阻害することによっても達成される。かかる活性化には、不活性又は低活性の生体分子が、活性化又は高活性化し、該生体分子の機能が增強する場合が含まれる。

40

【0020】

(ニューロキニンBシグナル)

これまでに、発明者らは、Dock8-/- AND Tgマウスが亢進した搔破行動を示し、血中のIL-31の濃度が上昇していることを明らかにした。また、実施例において詳述するように、発明者らは、このマウスの後根神経節において、Tachykinin 2 (Tac2) 遺伝子の発現量が約23倍に上昇していることを明らかにした。

【0021】

Tac2遺伝子は、神経ペプチドの前駆体であるpreprotachykinin-3 (PPT-3) をコードする。PPT-3は、プロセシング酵素により翻訳後修飾を受

50

けて、成熟型のニューロキニンB (neurokinin B、NK B)となる。NK Bは、neurokinin receptor 3 (NK 3 R)により受容される。

【0022】

発明者らは、IL - 31の濃度上昇により、NK Bの発現量が上昇し、NK BがNK 3 Rを発現する神経細胞を活性化し、続いて、gastrin-releasing peptide (GRP)を発現する神経細胞が活性化し、さらにGRP受容体が発現する神経細胞が活性化することにより、マウスの搔破行動が引き起こされることを明らかにした。

【0023】

本明細書において、NK Bが搔破行動を引き起こす過程において、機能する分子及び神経回路を、ニューロキニンBシグナルと呼ぶ。

【0024】

上述のニューロキニンBシグナルを遮断することにより、IL - 31の濃度上昇により引き起こされる搔破行動を抑制することができる。また、ニューロキニンBシグナルを遮断することにより、IL - 31介在性疾患を予防又は治療することができる。

【0025】

ニューロキニンBシグナル遮断剤は、PPT - 3、プロセシング酵素、NK B、NK 3 R、GRP、GRP受容体等の機能を抑制する薬剤であってもよい。

【0026】

また、ニューロキニンBシグナル遮断剤は、PPT - 3、プロセシング酵素、NK B、NK 3 R、GRP、GRP受容体等の発現量を抑制する薬剤であってもよいし、NK 3 R受容体又はGRP受容体が発現する神経細胞を除去する薬剤であってもよい。

【0027】

(アンタゴニスト)

ニューロキニンBシグナル遮断剤は、NK 3 Rのアンタゴニスト(拮抗薬)であってもよい。ニューロキニンBシグナル遮断剤は、NK 3 Rシグナル遮断剤ということもできる。また、NK 3 Rアンタゴニストは、NK 3 Rブロッカー(遮断薬)ということもできる。

【0028】

NK BはNK 3 Rに対して最も親和性が高く、NK 3 Rは、主にNK Bが結合することにより活性化される。

【0029】

実施例において後述するように、発明者らは、IL - 31の投与が、NK Bの発現を上昇させ、搔破行動を引き起こすことを明らかにした。また発明者らは、この搔破行動が、NK 3 Rのアンタゴニストである、オサネタント、フェゾリネタント、タルネタント、パヴィネタント、SSR - 146977、SB - 235375、SSR - 241586及びCS - 003により抑制されることを明らかにした。

【0030】

すなわち、NK 3 Rの活性化を阻害することにより、IL - 31の濃度上昇により引き起こされる搔破行動を抑制することができる。また、NK 3 Rの活性化を阻害することにより、IL - 31介在性疾患を予防又は治療することができる。

【0031】

NK 3 Rの活性化を阻害する因子としては、低分子化合物、ペプチド及びNK 3 Rに対する抗体等が挙げられる。

【0032】

1実施形態において、本発明は、上述のNK 3 Rアンタゴニストが、上記式(1)、(2)又は(3)で表される化合物若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である、IL - 31介在性疾患の予防又は治療剤を提供する。

【0033】

上記式(1)中、アルキル基又はアルコキシ基は、直鎖状であってもよく、分岐鎖状で

10

20

30

40

50

あってもよい。また、ハロゲン原子は、フッ素原子、塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子を意味し、好ましくはフッ素原子、塩素原子又はヨウ素原子である。

【0034】

また、アシル基は、ホルミル基又は炭素数1～6のアルキルカルボニル基であってよい。

【0035】

上記式(1)、(2)又は(3)で表される化合物の塩としては、無機酸の塩及び有機酸の塩であって、上記式(1)、(2)又は(3)で表される化合物の分離又は結晶化に適切な塩があげられる。上記式(1)で表される化合物の塩としては、より具体的には、例えば、ピクリン酸塩及びオキザル酸塩；光学的に活性な酸との塩、例えばマンデル酸塩及びカンファースルホン酸塩；薬学的に許容しうる塩等が挙げられる。

10

【0036】

上記式(1)、(2)又は(3)で表される化合物の薬学的に許容しうる塩としては、塩酸塩、臭素酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸二水素塩、メタンカルボン酸塩、メチル硫酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、2-ナフタレンカルボン酸塩、ベンゼンカルボン酸塩、グリコール酸塩、グルコン酸塩、クエン酸塩、イセチオン酸塩、パラ-トルエンカルボン酸塩等が挙げられる。

【0037】

上記式(1)、(2)又は(3)で表される化合物は、ラセミ体であってもよく、純粋なエナンチオマーであってもよい。

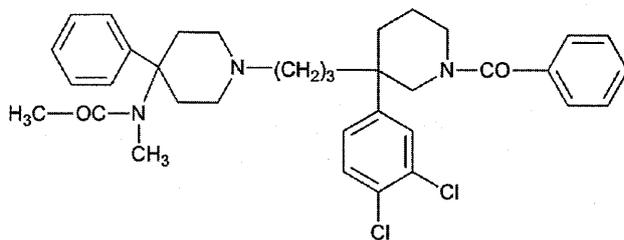
20

【0038】

上記式(1)で表される化合物は、オサネタント(Osanetant)であってもよい。オサネタントは、N-[1-[3-[(3R)-1-ベンゾイル-3-(3,4-ジクロロフェニル)ピペリジン-3-イル]プロピル]-4-フェニルピペリジン-4-イル]-N-メチルアセタミドの国際一般名(INN)であり、下記式(4)で表される化学構造を有する化合物である。また、下記式(4)の化合物のCAS番号は160492-56-8である。

【0039】

【化11】



(4)

30

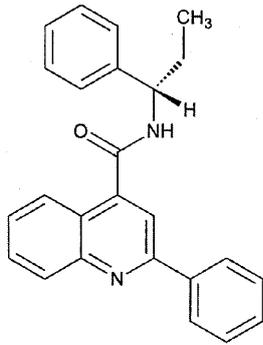
【0040】

上記式(1)で表される化合物は、SSR-146977であってもよい。SSR-146977は、N-[1-[3-[1-ベンゾイル-3(R)-(3,4-ジクロロフェニル)ピペリジン-3-イル]プロピル]-4-フェニルピペリジン-4-イル]-N',N'-ジメチルウレアであり、下記式(5)で表される化学構造を有する化合物である。また、下記式(5)の化合物のCAS番号は264618-44-2である。

40

【0041】

【化 1 2】



(5)

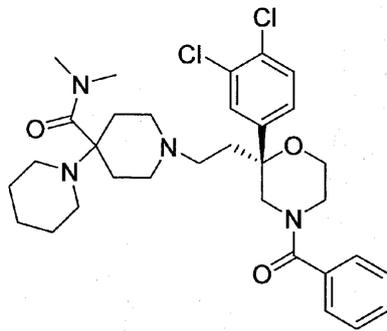
10

【0042】

上記式(1)で表される化合物は、SSR-241586であってもよい。SSR-241586は、(+)-1'-[2-[4-ベンゾイル-2(R)-(3,4-ジクロロフェニル)モルホリン-2-イル]エチル]-N,N-ジメチル-1,4'-ピペリジン-4'-カルボキサミドであり、下記式(6)で表される化学構造を有する化合物である。また、下記式(6)の化合物のCAS番号は1239279-30-1である。

【0043】

【化 1 3】



(6)

20

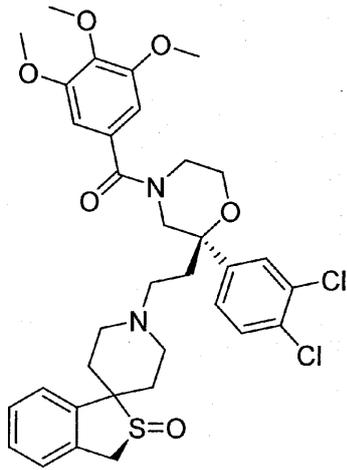
【0044】

上記式(1)で表される化合物は、CS-003であってもよい。CS-003は、1'-[2-[2-(R)-(3,4-ジクロロフェニル)-4-(3,4,5-トリメトキシベンゾイル)モルホリン-2-イル]エチル]スピロ[ベンゾ[c]チオフェン-1(3H)-4'-ピペリジン]2(S)-オキシドであり、下記式(7)で表される化学構造を有する化合物である。また、下記式(7)の化合物のCAS番号は191672-52-3である。

【0045】

30

【化14】



(7)

10

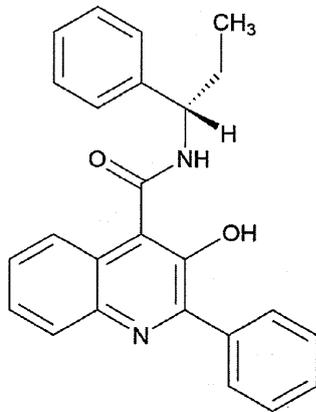
【0046】

上記式(2)で表される化合物は、タルネタント(Talnetant)であってもよい。タルネタントは、N-(1-エチルベンジル)-3-ヒドロキシ-2-フェニルキノリン-4-カルボキサミドであり、下記式(8)で表される化学構造を有する化合物である。また、下記式(8)で表される化合物のCAS番号は174636-32-9である。

20

【0047】

【化15】



(8)

30

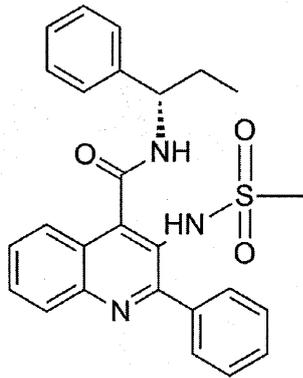
【0048】

上記式(2)で表される化合物は、パヴィネタント(Pavinetant)であってもよい。パヴィネタントは、3-(メタン sulfonアミド)-2-フェニル-N-[1S]-1-フェニルプロピル]キノリン-4-カルボキサミドであり、下記式(9)で表される化合物である。また、下記式(9)で表される化合物のCAS番号は941690-55-7である。

40

【0049】

【化 16】



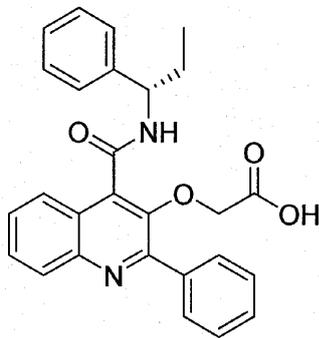
10

【0050】

上記式(2)で表される化合物は、SB-235375であってもよい。SB-235375は、2-[2-フェニル-4-[N-[1(S)-フェニルプロピル]カルバモイル]キノリン-3-イルオキシ]酢酸であり、下記式(10)で表される化合物である。また、下記式(10)で表される化合物のCAS番号は224961-34-6である。

【0051】

【化 17】



20

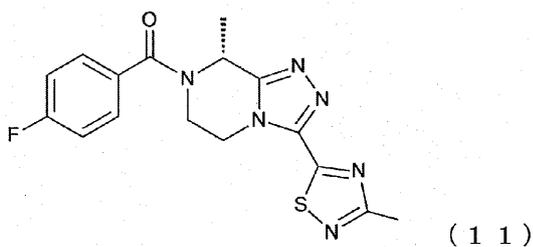
【0052】

上記式(3)で表される化合物は、フェゾリネタント(Fezolinetant)であってもよい。フェゾリネタントは、(4-フルオロフェニル)-[(8R)-8-メチル-3-(3-メチル-1,2,4-チアジアゾール-5-イル)-6,8-ジヒドロ-5H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a]ピラジン-7-イル]-メタノンであり、下記式(11)で表される化合物である。また、下記式(11)で表される化合物のCAS番号は1629229-37-3である。

30

【0053】

【化 18】



40

【0054】

(タキキニンプロセシング酵素)

マウスTac2遺伝子は、プレプロタキキニン-3(PPT-3)をコードしている。PPT-3は、翻訳後修飾を受け、neurokinin B(NKB)が合成される。

【0055】

50

この翻訳後修飾は、次の様に進むと考えられている。前駆体である PPT - 3 は、リジン残基又はアルギニン残基が 2 個連続した位置で切断される。この切断は、Prohormone convertase (PC) によって、触媒される。

【0056】

PC は、Proprotein convertase subtilisin/kexin (PCSK) ファミリーを構成している。PCSK ファミリーは、PCSK 1 ~ 9 から構成される。そのうち、PCSK 1 及び PCSK 2 は、生体内ペプチドをプロセッシングする主要な酵素である。

【0057】

PCSK 1 及び PCSK 2 の発現量が低下したマウスの神経組織においては、neurokinin A の濃度が低下する。

【0058】

切断されたペプチドの C 末端にある、リジン残基及びアルギニン残基は、carboxypeptidase により、除去される。このうち、この反応に主にかかわる酵素は、carboxypeptidase E (CPE) である。

【0059】

塩基性ペプチドが除去されたペプチドは、C 末端にグリシン残基を有する。この C 末端のグリシン残基の位のアミノ基は、Peptidyl-glycine alpha-amidating monooxygenase (PAM) により、アミド化される。

【0060】

ヒトにおいては、PAM は PAM 遺伝子にコードされている。PAM は、peptidylglycine alpha-hydroxylating monooxygenase (PHM) ドメインと、peptidyl-alpha-hydroxyglycine alpha-amidating lyase (PAL) ドメインから構成されている。

【0061】

PHM ドメインは、ペプチドの C 末端にあるグリシン残基を水酸化する。続いて、PAL ドメインは、水酸化されたグリシン残基を除去する。一連の反応により、グリシンは切断され、ペプチドの C 末端はアミド化されることになる。

【0062】

ヒト PPT - 3 及びマウス PPT - 3 は、配列番号 2 に示される、NKB のアミノ酸配列を有している。また、ヒト PPT - 3 及びマウス PPT - 3 は、プロセッシングに関わる上述の塩基性アミノ酸残基とグリシン残基を有している。

【0063】

このことから、ヒト PPT - 3 及びマウス PPT - 3 の翻訳後修飾は、同一の機構により進行すると考えられる。

【0064】

PCSK 及び CPE による切断、並びに PAM によるアミド化は、NKB が活性を持つために必要である。すなわち、これら酵素の活性を阻害することにより、NKB の作用を抑制することができる。

【0065】

ニューロキニン B シグナル遮断剤は、タキキニンプロセッシング酵素の阻害剤又はタキキニンプロセッシング酵素の分解促進剤であってもよい。タキキニンプロセッシング酵素の阻害剤又はタキキニンプロセッシング酵素の分解促進剤は、NKB の作用を抑制することにより、IL - 31 の濃度上昇による搔破行動を抑制することができる。したがって、タキキニンプロセッシング酵素の阻害剤は、IL - 31 介在性疾患を予防又は治療するために用いることができる。

【0066】

タキキニンプロセッシング酵素としては、例えば、Proprotein convertase subtilisin/kexin 1 (PCSK1)、Proprotei

10

20

30

40

50

n convertase subtilisin/kexin 2 (PCSK2)、carboxypeptidase E (CPE)、Peptidyl-glycine alpha-amidating monooxygenase (PAM) 等が挙げられるが、これに限定されず、タキキニンのプロセッシングに関わる酵素であれば何であってもよい。

【0067】

タキキニンプロセッシング酵素の阻害剤は、低分子化合物であってもよく、ペプチドであってもよく、またタキキニンプロセッシング酵素に対する抗体等であってもよい。

【0068】

(発現抑制剤)

10

1実施形態において、本発明は、ニューロキニンBシグナル遮断剤であって、ニューロキニンB、ニューロキニン3受容体、タキキニンプロセッシング酵素、GRP又はGRP受容体の発現抑制剤である、IL-31介在性疾患の予防又は治療剤を提供する。

【0069】

発現抑制剤としては、例えば、siRNA、shRNA等が挙げられる。NK Bシグナルに関わるタンパク質をコードする遺伝子に対する発現抑制剤を投与することにより、上記のいずれかの因子の発現量を低下させて、NK Bシグナルを遮断することができる。その結果、IL-31の濃度上昇により引き起こされる搔破行動を抑制することができる。また、これらの発現抑制剤の投与により、IL-31介在性疾患を予防又は治療することができる。

20

【0070】

(神経細胞の除去)

1実施形態において、本発明は、ニューロキニン3受容体又はGRP受容体を発現する神経細胞の除去剤である、IL-31介在性疾患の予防又は治療剤を提供する。

【0071】

上記の神経細胞の除去剤は、細胞毒性物質を結合した、GRP、GRP受容体に対する特異的結合物質、ニューロキニンB又はニューロキニン3受容体に対する特異的結合物質であってもよい。

【0072】

細胞毒性物質としては、例えば、リボソーム不活性化タンパク質(ribosome inactivating protein、RIP)、ジフテリア毒素等が挙げられる。RIPとしては、例えば、サポリン、リシン、アプリン等が挙げられる。

30

【0073】

細胞毒性物質と結合したGRPは、GRP受容体発現神経細胞に捕捉され、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。同様に、細胞毒性物質と結合したニューロキニンBは、ニューロキニン3受容体(NK3R)発現神経細胞に捕捉され、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。続いて、細胞毒性物質を取り込んだ神経細胞は死滅し、除去される。

【0074】

実施例において後述するように、発明者らは、サポリンをGRPにコンジュゲートさせた、GRP-サポリンをマウスに投与し、GRP受容体を発現する神経細胞に細胞死を誘導することにより、神経細胞を除去した。その結果、GRP受容体を発現する神経細胞を除去したマウスにおいては、IL-31及びNK Bの投与により引き起こされる搔破行動が抑制されることを明らかにした。

40

【0075】

すなわち、GRP受容体又はNK3Rを発現する神経細胞を除去することにより、ニューロキニンBシグナルを遮断することができる。その結果、IL-31の濃度上昇により引き起こされる搔破行動を抑制することができる。

【0076】

また、上述の神経細胞の除去剤は、標的神経細胞の表面に特異的に捕捉されるタンパク

50

質に、細胞毒性物質を結合したものであってもよい。標的神経細胞の表面に捕捉されるタンパク質としては、例えば、標的神経細胞特異的に発現する受容体に結合するリガンドでもよいし、標的神経細胞特異的に発現しかつ細胞表面に存在するタンパク質に対する特異的結合物質であってもよい。特異的結合物質としては、抗体、抗体断片、又はアプタマー等が挙げられる。抗体としては、例えば、抗GRP受容体抗体、抗NK3R抗体等が挙げられる。

【0077】

[医薬組成物]

1実施形態において、本発明は、上述したIL-31介在性疾患の予防又は治療剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、IL-31介在性疾患予防又は治療用医薬組成物を提供する。

10

【0078】

本実施形態の医薬組成物は、経口的に使用される剤型であってもよく、非経口的に使用される剤型であってもよい。経口的に使用される剤型としては、例えば錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤等が挙げられる。非経口的に使用される剤型としては、例えば注射剤、吸入剤、坐剤、皮膚外用剤、貼付剤等が挙げられる。

【0079】

薬学的に許容される担体としては、例えば、滅菌水、生理食塩水等の溶媒；ゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム、アラビアゴム等の結合剤；結晶性セルロース等の賦形剤；アルギン酸等の膨化剤等が挙げられる。

20

【0080】

医薬組成物は添加剤を更に含んでもよい。添加剤としては、ステアリン酸マグネシウム等の潤滑剤；ショ糖、乳糖、サッカリン等の甘味剤；ペパーミント、アカモノ油等の香味剤；ベンジルアルコール、フェノールの安定剤；リン酸塩、酢酸ナトリウム等の緩衝剤；安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等の溶解補助剤；酸化防止剤；防腐剤等が挙げられる。

【0081】

医薬組成物は、上記の担体及び添加剤を適宜組み合わせ、一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製剤化することができる。

【0082】

患者への投与は、例えば、髄腔内注射、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射等のほか、鼻腔内的、経気管支的、筋内的、経皮的、又は経口的に当業者に公知の方法により行いうる。投与量は、患者の体重や年齢、患者の症状、投与方法等により変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。

30

【0083】

IL-31介在性疾患、例えばアトピー性皮膚炎の予防又は治療剤の投与量は、アトピー性皮膚炎の予防又は治療剤の種類、患者の症状等により変動するが、経口投与の場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約0.1~500mg、好ましくは約1.0~250mg、より好ましくは約1.0~100mg程度を、1日1回、又は数回に分けて投与することが適切であると考えられる。

40

【0084】

非経口的に投与する場合、その投与量は、IL-31介在性疾患、例えばアトピー性皮膚炎の予防又は治療剤の種類、患者の症状、投与部位、投与方法等により変動するが、全身投与を行う場合は、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約0.1~500mg、好ましくは約1.0~250mg、より好ましくは約1.0~100mg程度を、1日1回、又は数回に分けて投与することが適切であると考えられる。局所投与を行う場合は、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約0.001~10mg、好ましくは約0.01~5mg、より好ましくは約0.02~2mg程度を、1日1回、又は数回に分けて投与することが適切であると考えられる。

【0085】

50

[その他の実施形態]

1 実施形態において、本発明は、ニューロキニンBシグナル遮断剤の有効量を、治療を必要とする患者に投与することを含む、IL-31介在性疾患の予防又は治療方法を提供する。

【 0086 】

1 実施形態において、本発明は、IL-31介在性疾患の予防又は治療のためのニューロキニンBシグナル遮断剤を提供する。

【 0087 】

1 実施形態において、本発明は、IL-31介在性疾患の予防又は治療剤を製造するためのニューロキニンBシグナル遮断剤を提供する。

【 0088 】

上記の各実施形態において、上記ニューロキニンBシグナル遮断剤は、ニューロキニン3受容体アンタゴニストであってもよい。上記ニューロキニンBシグナル遮断剤は、タキキニンプロセシング酵素の阻害剤又はタキキニンプロセシング酵素の分解促進剤であってもよい。上記ニューロキニンBシグナル遮断剤は、ニューロキニンB (NK B)、ニューロキニン3受容体、タキキニンプロセシング酵素、gastrin-releasing peptide (GRP) 又はGRP受容体の発現抑制剤であってもよい。上記ニューロキニンBシグナル遮断剤は、ニューロキニン3受容体又はGRP受容体を発現する神経細胞の除去剤であってもよい。

【 0089 】

上記、ニューロキニン3受容体アンタゴニストは、上記一般式(1)、(2)又は(3)で表される化合物若しくはその塩又はそれらの溶媒和物であってもよい。上記一般式(1)で表される化合物は上記式(4)、(5)、(6)又は(7)で表される化合物であってもよく、上記一般式(2)で表される化合物は上記式(8)、(9)又は(10)で表される化合物であってもよく、上記一般式(3)で表される化合物は上記式(11)で表される化合物であってもよい。

【 0090 】

上記阻害剤は、Proprotein convertase subtilisin/kexin 1、Proprotein convertase subtilisin/kexin 2、carboxypeptidase E、又はPeptidylglycine alpha-amidating monooxygenaseの阻害剤であってもよい。

【 0091 】

上記除去剤は、細胞毒性物質を結合した、GRP、GRP受容体に対する特異的結合物質、NK B又はニューロキニン3受容体に対する特異的結合物質であってもよい。上記細胞毒性物質は、リボソーム不活性化タンパク質又はジフテリア毒素であってもよい。上記リボソーム不活性化タンパク質は、サポリン、リシン又はアプリンであってもよい。

【 実施例 】

【 0092 】

以下、実施例により本発明を説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【 0093 】

[材料及び方法]

(マウス)

Tac2^{-/-}マウスは、CRISPR/Cas9システムによるゲノム編集により作製した。CHOPCHOPウェブデザインツール (<https://chopchop.rc.fas.harvard.edu/>) を用いて、マウスTac2遺伝子のエクソン4内に、標的部位を選択した。配列番号3と配列番号4に示されるオリゴヌクレオチドと、BbsIライゲーションアダプターを合成した。配列番号5と配列番号6で示される配列が、ガイド配列である。sgRNAとCas9タンパク質を共発現させるために、これらふたつのヌクレオチドを合成し、アニ

10

20

30

40

50

ールさせ、ライゲーションにより、BbsIにより消化したp×330ベクターに挿入した。作製したp×330ベクター（濃度 5 ng/μL、ダルベッコPBS）を、M2培地（sigma社）中で、in vitroで受精させたC57BL/6マウス受精卵の前核にインジェクションした。インジェクションされた生殖細胞を、CZB培地中、37、5%CO₂の環境下で、2細胞期の胚が成熟するまで生育させた。引き続いて、24個～36個の胚を、メスのICRマウスの卵管に移植した。仔マウスの遺伝子型を、配列6と配列7に示されるプライマーを用いて、PCRを行い、TAKローニング、DNAシークエンシングによって、同定した。所望の変異（4及び15）を持つ仔マウスを、C57BL/6マウス又はDock8^{-/-} AND Tgマウスと交配させた。

【0094】

IL31^{-/-}マウスの作製については、まず、pNT1.1ベクターをもとに、enhanced green fluorescent protein (EGFP)とflippase recognition target (FRT)-flanked neomycin resistant cassette (neo)を、開始コドンの直後に挿入し、ターゲティングベクターを作製した。このターゲティングベクターを、エレクトロポレーションにより、胚性幹細胞（ES細胞）に導入した。正しくベクターが導入されたESクローンを、マイクロインジェクションにより胚盤胞へ注入し、得られたオスのキメラ個体を、メスのC57BL/6マウスと交配させた。変異のヘテロ接合マウスを、CAG-FLPeトランスジェニックマウス（RBRC01834）と交配し、neoを除去した。neoが除去された変異マウスは、Dock8^{+/-} AND Tgマウス又はDock8^{+/-} Osmr^{+/-}マウスと交配する前に、C57BL/6マウスと5回以上戻し交雑した。Osmrは、オンコスタチンM受容体（Oncostatin M receptor, OSMR）をコードする遺伝子であり、OSMRはIL-31受容体とヘテロダイマーを構成してIL-31シグナルを細胞内に伝える。

【0095】

全てのマウスは、九州大学の動物施設内の、特別な、病原体のない環境において飼育された。実験のコントロールとしては、週齢、性別が一致する同腹仔を用いた。動物実験の手法は、九州大学の動物実験倫理委員会により認可された。

【0096】

（神経の除去）

GRP-サポリン、Nppb-サポリン及びサポリンのみ（それぞれ、2 μg/5 μL、Advanced Targeting Systems）を、L3/4部位に髄腔内投与することにより、GRP受容体とNppb受容体を発現する脊髄の神経細胞の除去を行った。毒物を注射した2週間後に、マウスは実験に用いられた。

【0097】

（搔破行動の計測）

実験の前に、環境に慣れさせるために、マウスは、最低1時間、アクリル製ケージ（11 cm×14 cm×20 cm）に入れられた。引き続いて、50 μLの、滅菌した生理食塩水に溶解させた搔痒惹起物質を、マウスの肩に皮内注射し、これらマウスの行動をビデオ撮影した。指定された時間内の搔破行動の合計回数を、ビデオを再生して決定した。マウスの搔破行動時には、マウスは後脚を痒い箇所へ伸ばし、頭部を後脚へ傾け、すばやく後脚を数回動かす、後脚を地面にもどす。これら一連の動作を、一回の搔破行動としてカウントした。搔痒惹起物質としては、IL-31（1 μg/50 μL；ペプロテック）、SLIGRL-NH2（100 μg/50 μL；BACHEM）、クロロキン（100 μg/50 μL；和光純薬）及びヒスタミン（100 μg/50 μL；和光純薬）を使用した。

【0098】

いくつかの実験では、マウスの搔破行動に対するNK3Rアンタゴニストの作用を検討した。NK3Rアンタゴニスト又はNK3Rアンタゴニストとしての活性を有する化合物として、オサネタント（Axon Medchem）、タルネタント（ナミキ商事）、パ

10

20

30

40

50

ヴィネタント(ナミキ商事)、フェゾリネタント(Haoyuan ChemExpress)、SSR-146977(Tocris)、SSR-241586(WuXi AppTec)、SB-235375(WuXi AppTec)およびCS-003(WuXi AppTec)を使用した。これらの化合物は、掻痒惹起物質を皮内注射する45分前に、マウスに対して、マウスの体重あたりの所定量を投与した。オサネタントは、0.1% Tween-20を含むリン酸緩衝液(PBS)に溶解させて、5mg/kgで腹腔内注射した。タルネタント及びバヴィネタントは、10%ジメチルスルホキシド(DMSO)、40%ポリエチレングリコール300、5% Tween-80及び45%生理食塩水の混合液に溶解させて、30mg/kgで腹腔内注射した。フェゾリネタントは、10% DMSOを含むPBSに溶解させて、10mg/kgで経口投与した。SSR-146977は、0.1%エタノールを含むPBSに溶解させて、0.3mg/kgで腹腔内注射した。SSR-241586は、0.01% Tween-80水溶液に溶解させて、3mg/kgで腹腔内注射した。SB-235375は、PBSに溶解させて、3mg/kgで経口投与した。CS-003は、5%グルコースを含むPBSに溶解させて、3mg/kgで静脈内注射した。

10

【0099】

(組織学と免疫組織化学)

皮膚組織は、4%(w/v)のパラホルムアルデヒドで固定し、パラフィンブロックに包埋した。3µmの厚さの切片を、ヘマトキシリンとエオシンにより染色し、光学顕微鏡で観察した。dorsal root ganglion(DRG、後根神経節)と脊髄の免疫組織化学的解析では、マウスをイソフルランで麻酔後に、心臓からPBS及び4%パラホルムアルデヒドを順次かん流した。DRGと脊髄組織を回収し、4で一晩固定した後に、30%スクロス-PBSに浸漬して、組織の凍害を防いだ。組織サンプルをOCTコンパウンド(Sakur Fintech)により包埋し、ドライアイス上で凍結させた。クライオスタットを用いて、10µmの厚さの切片を作製し、室温で30分間、G-block(Genostaff、GB-01)により、切片をブロッキングし、4で一晩、一次抗体とインキュベートした。一次抗体は、蛍光色素とコンジュゲートした二次抗体(サーモフィッシュサイエンティフィック)で検出した。各染色には、DAPI(1:5000、同仁化学研究所)を用いた。全ての画像は、共焦点レーザー顕微鏡(FV3000、Olympus)を用いて取得した。一次抗体としては、ウサギ抗neurokinin B抗体(1:500; NOVUS, NB300-201)、ウサギ抗NK3R抗体(1:50; NOVUS, NB300-102)、ウサギ抗TRPV1抗体(1:500; Millipore, AB9554)、抗IL-31RA抗体(1:100; R&D Systems, AF2107)、マウス抗c-fos抗体(1:1000; Encor, MCA-2H2)、ウサギ抗GRPR抗体(1:50; LSBio, LS-A831-50)及びウサギ抗NPRA抗体(1:50; LSBio, LS-C164506)を用いた。

20

30

【0100】

(マイクロアレイ解析)

全RNAはISOGEN(ニッポンジーン)を用いて分離し、Low Input Quick Amp Labeling Kit(アジレントテクノロジーズ)を用いて、cRNAを増幅し、標識した。cRNAを44K 60-mer oligomicroarray(Whole Mouse Genome oligo DNA Microarray Kit Ver 2.0; アジレントテクノロジーズ)にハイブリダイズさせた。Agilent scannerを用いて、ハイブリダイズさせたマイクロアレイスライドをスキャンした。Feature Extraction Software version 9.5.1.1(アジレントテクノロジーズ)を用いて、ハイブリダイゼーションの相対強度と、ハイブリダイゼーションのバックグラウンド値を算出した。アジレントテクノロジーズが推奨する手法に従って、シグナル強度の生データと、プローブのフラグ値は、ハイブリダイゼーション強度とスポット位置から算出した。実験サンプル

40

50

ル中の、発現量が上昇又は減少した遺伝子を同定するために、それぞれのプローブの規格化したシグナル強度をもとに、Z - スコアと比率を算出した。Z - スコアが 2 . 0 より大きく、比率が 1 . 5 より大きい遺伝子を、発現量が上昇した遺伝子と判断し、Z - スコアが - 2 . 0 より小さく、比率が 0 . 6 6 より小さい遺伝子を、発現量が低下した遺伝子と判断した。

【 0 1 0 1 】

(統計処理)

Graph Pad Prismを用いて、統計処理を行った。まず、Kolmogorov - Smirnov testにより、データが正規分布に従うか検討した。パラメトリックなデータは、ふたつの集団のデータを比較する場合には、two - tailed unpaired Student's t testを用いて、解析した。パラメトリックなデータは、複数の集団のデータを比較する場合には、one - way ANOVAを用いた後、Bonferroni post hoc testを用いて、解析した。ノンパラメトリックなデータは、ふたつの集団のデータを比較する場合には、Mann - Whitney testを用いて、解析した。0 . 0 5 以下のP値を、有意であると考えた。

10

【 0 1 0 2 】

(リアルタイムPCR)

ISOGEN (ニッポンジーン) を用いて、それぞれの組織から、全RNAを分離した。RNase - free DNase I (サーマフィッシャーサイエンティフィック) により全RNAを処理した。このRNAサンプルを、オリゴ (dT) プライマー (サーマフィッシャーサイエンティフィック) とSuperScript III逆転写酵素 (サーマフィッシャーサイエンティフィック) を用いて逆転写し、PCRにより増幅した。リアルタイムPCRは、SYBR Green PCR Master Mix (アプライドバイオシステムズ) を用いて、Cfx Connecttm Thermal Cycler (バイオラッド) により行った。標的遺伝子の発現量は、Hprt遺伝子の発現量で規格化した。解析には、装置に付属のCFX Manager (ver 3 . 1) を用いた。

20

【 0 1 0 3 】

[実験例 1]

(痒みを伝達する神経回路)

IL - 3 1 により活性化される、搔痒の感覚を伝達する神経回路について解析した。多くの痒みを誘起する物質は、脊髄神経において、natriuretic polypeptide b (Nppb) 、又はgastrin - releasing peptide (GRP) を介して、搔痒感覚を伝達する。

30

【 0 1 0 4 】

GRP受容体又はNppb受容体を発現する神経細胞を除去するために、サポリンをコンジュゲートさせたGRP又はNppb (GRP - サポリン、Nppb - サポリン) を、それぞれ野生型のC57BL / 6マウスの髄腔へ注射し、2週間後にIL - 3 1 をこれらのマウスに投与して、各マウスの搔破行動を解析した。

40

【 0 1 0 5 】

サポリンは、リボソーム不活性化タンパク質 (ribosome - inactivating protein、RIP) のひとつである。

【 0 1 0 6 】

標的神経細胞に発現する受容体のリガンドとRIPをコンジュゲートしたタンパク質は、標的神経細胞に捕捉され、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。取り込まれた、RIPとコンジュゲートされたタンパク質は、翻訳を阻害し、標的神経細胞を死滅させる。

【 0 1 0 7 】

図 1 (a) は、GRP - サポリン又はNppb - サポリンを、それぞれ野生型C57BL / 6マウスの髄腔へ注射した後、IL - 3 1 をこれらマウスに投与し、これらマウスの

50

搔破行動を解析した結果である。図1(a)中、Blankはサボリンのみを髄腔へ注射した結果を示す。IL-31(-)はIL-31非投与群の結果を示し、IL-31(+)は、IL-31投与群の結果を示す。図1(a)~(c)中、「*」は $p < 0.05$ で有意差があることを示し、「**」は $p < 0.01$ で有意差があることを示す。

【0108】

髄腔内注射実験の結果から、GRP-サボリンの注射により、IL-31により誘導される搔破行動は抑制されることが明らかになった。しかし、Nppb-サボリンを注射した場合には、搔破行動は抑制されなかった。

【0109】

次に、GRP受容体(GRP R)又はNPP受容体A(NPRA)のmRNA及びタンパク質の発現量を解析することにより、GRP-サボリン及びNppb-サボリンが、それぞれ、GRP R及びNPRAを発現する神経を除去したか否かを確認した。

10

【0110】

GRP R及びNPRA遺伝子のmRNAの発現量は、次のように解析した。まず、注射後の脊髄をマウスから摘出し、摘出した脊髄から全RNAを分離し、全RNAを鋳型にして逆転写反応を行った。引き続き、定量PCRを行って、各遺伝子の発現量を解析した。

【0111】

図1(b)及び(c)は、GRP-サボリン又はNppb-サボリンを、それぞれ野生型C57BL/6マウスの髄腔へ注射した後、脊髄におけるGRP R及びNPRAのmRNAの発現量を解析した結果である。

20

【0112】

GRP R及びNPRAのmRNAの発現量を解析した結果から、GRP-サボリン又はNppb-サボリンの注射により、脊髄におけるGRP R及びNPRA mRNAの発現量が低下していることが確認された。

【0113】

GRP R及びNPRAのタンパク質の発現量は、次のように解析した。注射後の脊髄をマウスから摘出し、摘出した脊髄から切片を作製した。作製した切片を、抗GRP R抗体及び抗NPRA抗体を用いて、免疫組織化学により解析した。

【0114】

図1(d)は、GRP-サボリン又はNppb-サボリンを髄腔へ注射した後、脊髄を摘出し、抗GRP R抗体及び抗NPRA抗体を用いて免疫染色した結果である。図1(d)中、スケールバーは10 μ mを示す。

30

【0115】

GRP Rタンパク質及びNPRAタンパク質の発現量を解析した結果から、GRP-サボリン又はNppb-サボリンの注射により、脊髄におけるGRP R及びNPRAタンパク質の発現量が低下していることが確認された。

【0116】

以上の結果を小括すると、GRP-サボリン又はNppb-サボリンを注射することにより、GRP R及びNPRAを発現する神経細胞が除去されることが確認された。また、IL-31の投与により惹起される搔破行動は、Nppbを介さず、GRPを介することが明らかになった。

40

【0117】

[実験例2]

(IL-31変異マウスの作製)

IL-31の機能を解析するために、IL-31遺伝子を欠損するマウスを作製した。上述したように、FRTに挟まれたneoカセットを、IL-31遺伝子のエクソン1の直後に挿入した。図2(a)は、IL-31遺伝子、ターゲティングベクター及び組換え後の遺伝子構造を模式的に示した図である。

【0118】

50

図2(a)中、WT alleleは、野生型C57BL/6マウスのIL-31の遺伝子構造の模式図であり、Targeting vectorは、ターゲティングベクターの構造の模式図であり、Recombinant alleleは、相同組換え後の遺伝子構造の模式図であり、KI alleleは、フリップアーゼによりneoカセットが除去された後の遺伝子構造の模式図である。

【0119】

野生型C57BL/6マウスと、neoが除去されたマウスの遺伝子型は、配列番号9、10及び11に示されるプライマーを用いて、PCRにより判別した。図2(b)は、各PCR産物を2%のアガロースゲルにより電気泳動した図である。図2(b)中、w/wは野生型alleleの遺伝子型を示し、KI/wは野生型alleleとKI alleleのヘテロ接合の遺伝子型を示し、KI/KIはKI alleleホモ接合の遺伝子型を示す。

10

【0120】

野生型C57BL/6マウスのゲノムを鋳型としたPCR産物の長さは300bpであり、IL-31遺伝子が除去された、ノックインマウスのゲノムを鋳型としたPCR産物の長さは550塩基対であった。この結果から、ノックインマウスが得られたことが確認された。

【0121】

[実験例3]

(Dock8^{-/-} AND Tgマウスの解析)

Dock8^{-/-} AND Tgマウスの皮膚炎及び搔破行動を解析した。また、Dock8^{-/-} AND Tgマウスの後根神経節において発現量が上昇する遺伝子を解析した。

20

【0122】

まず、Dock8^{+/-}Osmr^{+/+}IL31^{+/+}、Dock8^{-/-}Osmr^{+/-}IL31^{+/+}、Dock8^{-/-}Osmr^{-/-}IL31^{+/+}及びDock8^{-/-}Osmr^{+/+}IL31^{-/-}の遺伝子型を有するAND Tgマウスの皮膚組織をHE染色により解析した。図3(a)は、ヘマトキシリン染色により、各遺伝子型のマウスの皮膚組織を解析した図である。Osmrは、オンコスタチンM受容体(Oncostatin M receptor、OSMR)をコードする遺伝子であり、OSMRはIL-31受容体とヘテロダイマーを構成してIL-31シグナルを細胞内に伝える。

30

【0123】

皮膚組織を解析した結果から、Dock8遺伝子を欠損するAND Tgマウスは、アトピー性皮膚炎様の皮膚炎を起こすが、この皮膚炎は、Osmr又はIL31遺伝子の欠損により消失することが明らかになった。

【0124】

次に、Dock8^{+/-}Osmr^{+/+}IL31^{+/+}、Dock8^{-/-}Osmr^{+/-}IL31^{+/+}、Dock8^{-/-}Osmr^{-/-}IL31^{+/+}及びDock8^{-/-}Osmr^{+/+}IL31^{-/-}の遺伝子型を有するAND Tgマウスの、搔破行動を解析した。図3(b)は、各遺伝子型のマウスの搔破行動を解析した図である。

40

【0125】

搔破行動を解析した結果から、Dock8遺伝子を欠損するAND Tgマウスは、搔破行動を示すが、この搔破行動は、Osmr又はIL31遺伝子の欠損により消失することが明らかになった。

【0126】

さらに、Dock8^{+/-}Osmr^{+/+}IL31^{+/+}、Dock8^{-/-}Osmr^{+/-}IL31^{+/+}、Dock8^{-/-}Osmr^{-/-}IL31^{+/+}及びDock8^{-/-}Osmr^{+/+}IL31^{-/-}の遺伝子型を有するAND Tgマウスの血清中の、IL-31の濃度を解析した。図3(c)は、各遺伝子型のマウスの血清中の、IL-31の濃度を解析した結果である。

50

【0127】

IL-31の濃度を解析した結果から、Dock8遺伝子を欠損するAND Tgマウスの血清中のIL-31の濃度は上昇するが、この濃度の上昇は、IL-31遺伝子の欠損により消失した。

【0128】

次に、Dock8^{-/-} AND Tgマウスの後根神経節(dorsal root ganglion、DRG)における発現量が、Dock8^{+/-} AND TgマウスのDRGにおける発現量よりも高い遺伝子を、マイクロアレイを用いて解析した。

【0129】

マイクロアレイの解析結果から、既知のシグナル伝達因子及び神経伝達物質等のmRNAの発現量が上昇していることが明らかになった。そのうちのひとつは、ニューロキニンBをコードするTac2であった。

10

【0130】

次に、Dock8^{+/-} Osmr^{+/+} IL31^{+/+}、Dock8^{-/-} Osmr^{+/-} IL31^{+/+}、Dock8^{-/-} Osmr^{-/-} IL31^{+/+}及びDock8^{-/-} Osmr^{+/-} IL31^{-/-}の遺伝子型を有するAND Tgマウスの、DRGにおける、Tac2のmRNAの発現量を解析した。図3(d)は、各遺伝子型のマウスのDRGにおける、Tac2のmRNAの発現量を解析した結果である。図3(b)~(d)中、Dock8^{+/-} Osmr^{+/+} IL31^{+/+}のデータと比較して、「*」はp<0.05で有意差があることを示し、「**」はp<0.01で有意差があることを示す。

20

【0131】

Tac2のmRNAの発現量は、次のように解析した。まず、各遺伝子型のマウスのDRGから全RNAを分離して、全RNAを鋳型にして逆転写反応を行った。続いて、定量PCRを行い、Tac2遺伝子のmRNAの発現量を解析した。

【0132】

その結果、Dock8遺伝子を欠損するAND TgマウスのDRGにおいて、Tac2のmRNAの発現量は23倍に上昇することが明らかになった。また、この発現量の上昇は、Osmr又はIL31遺伝子の欠損により消失することが明らかになった。

【0133】

以上の結果を小括すると、Dock8^{-/-} AND Tgマウスにおいては、IL-31タンパク質の産生量が上昇し、IL-31タンパク質はOSMRを含むIL-31受容体タンパク質を介して、Tac2遺伝子の発現量を上昇させることが明らかになった。

30

【0134】

[実験例4]

(IL-31及びNK B刺激による遺伝子発現変化)

IL-31又はNK Bの投与による、Tac2、Grp及びNppbの発現量変化を解析した。まず、野生型のC57BL/6マウスより単離したDRG神経細胞を、インビトロにおいて、IL-31タンパク質の投与により刺激し、Tac2、Grp及びNppbのmRNAの発現量を解析した。図4(a)は、IL-31を投与後、各遺伝子のmRNAの発現量を解析した結果である。

40

【0135】

Tac2、Grp及びNppbのmRNAの発現量を解析した結果から、IL-31の投与により、Tac2とGrpのmRNAの発現量は上昇するが、Nppbの発現量は上昇しないことが明らかになった。

【0136】

次に、野生型のC57BL/6マウスより単離したDRG神経細胞を、インビトロでニューロキニンB(NK B)により刺激し、Grp及びNppbのmRNAの発現量を解析した。図4(b)は、NK Bの投与後、各遺伝子の発現量を解析した結果である。

【0137】

50

Grp及びNppbのmRNAの発現量を解析した結果から、NK Bによる刺激により、GrpのmRNAの発現量が上昇することが明らかになった。この結果から、NK BがGRPの上流において機能すると考えられる。

【0138】

[実験例5]

(Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおけるNK Bの発現)

Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおけるNK BとIL-31 receptor A (IL-31RA)の発現を免疫染色により解析した。

【0139】

Dock8^{-/-} AND TgマウスからDRGを単離して、切片を作製した。作製した切片を、抗NK B抗体及び抗IL-31RA抗体を用いて、免疫組織化学により解析した。図5(a)は、抗NK B抗体及び抗IL-31RA抗体による免疫染色の結果である。

10

【0140】

図5(a)中、「DAPI」は、DAPI染色の結果を示し、「NK B」は、抗NK B抗体による免疫染色の結果を示し、「IL-31RA」は、抗IL-31RA抗体による免疫染色の結果を示し、「Merge」は、抗NK B抗体による免疫染色、抗IL-31RA抗体による免疫染色及びDAPI染色を重ね合わせた結果を示す。スケールバーは100µmを示す。

【0141】

免疫染色の結果から、Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおいて、IL-31RAタンパク質が発現する細胞において、NK Bが発現することが明らかになった。

20

【0142】

次に、Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおける、NK BとTransient receptor potential cation channel vanilloid subtype 1 (TRPV1)タンパク質の発現を免疫染色により解析した。

【0143】

TRPV1は、痒みを感知する感覚神経細胞において発現し、その感覚神経細胞は、脊髄後角のouter layer lamina Iへ軸索を伸ばす。

30

【0144】

NK B及びTRPV1の発現は、次のように解析した。Dock8^{-/-} AND TgマウスからDRGを単離して、切片を作製した。作製した切片を、抗NK B抗体及び抗TRPV1抗体を用いて、免疫組織化学により解析した。図5(b)は、Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおける、NK BとTRPV1の発現を示す図である。

【0145】

図5(b)中、「DAPI」は、DAPI染色の結果を示し、「NK B」は、抗NK B抗体による免疫染色の結果を示し、「TRPV1」は、抗TRPV1抗体による免疫染色の結果を示し、「Merge」は、抗NK B抗体による免疫染色と、抗TRPV1抗体による免疫染色とを、重ね合わせた結果を示す。

40

【0146】

免疫染色の結果から、Dock8^{-/-} AND TgマウスのDRGにおいて、TRPV1が発現する細胞の一部において、NK Bが発現することが明らかになった。

【0147】

[実験例6]

(Tac2遺伝子変異マウスの作製)

Tac2遺伝子の機能を解析するために、CRISPR/Cas9ヌクレアーゼを用いて、Tac2遺伝子を欠損するマウス(Tac2^{-/-})を作製した。

【0148】

図6(a)は、マウスTac2遺伝子と、それにコードされるタンパク質とを模式的に

50

示した図である。成熟型であり、活性のある T a c 2 タンパク質は、エクソン 6 にコードされ、これは前駆体ペプチドからプロセッシングを経て合成される。C R I S P R / C a s 9 システムによるゲノム編集に用いるガイド RNA は、エクソン 4 の内部に設計した。

【 0 1 4 9 】

上述のゲノム編集により、2 系統の変異マウス (4 及び 1 5) を作製した。P C R においては、配列番号 7 と配列番号 8 に示される配列のプライマーを用いた。電気泳動は、M u l t i N A マイクロチップ電気泳動システム (M C E - 2 0 2 、 島津製作所) を用いて行った。図 6 (b) は、P C R と電気泳動により、T a c 2 遺伝子欠損マウスの T a c 2 の遺伝子型 (4 及び 1 5) を、判別した図である。

【 0 1 5 0 】

図 6 (c) は、2 種の変異のゲノム配列と、転写された m R N A がコードするアミノ酸配列を示した図である。欠失部位は、4 (4 塩基欠損) 及び 1 5 (1 5 塩基欠損) で示した。図 6 (c) 中、コーディング配列を実線で、スプライスドナー配列をボックスで示した。

【 0 1 5 1 】

転写された m R N A の配列を次のように決定した。まず、それぞれの変異マウスの D R G 神経細胞から全 R N A を分離し、逆転写反応により c D N A を得た。これら c D N A を、配列番号 1 2 と配列番号 1 3 に示されるプライマーを用いて、P C R により増幅させた。増幅産物を T A クローニングによりクローニングし、c D N A 配列を解析した。

【 0 1 5 2 】

2 種の変異は、共に、エクソン 4 に欠失変異があり、アミノ酸配列にフレームシフトを引き起こす。そのため、変異した遺伝子は、成熟型ペプチド配列をコードしないことが明らかになった。

【 0 1 5 3 】

[実験例 7]

(T a c 2 変異マウスの解析)

T a c 2 変異マウス (4 及び 1 5) を用いて、I L - 3 1 の投与により誘起される痒みの伝達において、T a c 2 遺伝子がコードする N K B タンパク質の果たす役割を解析した。

【 0 1 5 4 】

T a c 2^{-/-} (4) マウスと T a c 2^{+/-} マウスに対して、掻痒惹起物質である、ヒスタミン、クロロキン、S L I G R L - N H₂ (P A R 2 アゴニスト) 又は I L - 3 1 を皮内注射した。結果を図 7 に示す。

【 0 1 5 5 】

図 7 (a) は、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対して、ヒスタミンを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。図 7 (b) は、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対してクロロキンを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。図 7 (c) は、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対して P A R 2 アゴニスト (S L I G R L - N H₂) を投与した後の、搔破行動を解析した結果である。図 7 (d) は、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対して I L - 3 1 を投与した後の、搔破行動を解析した結果である。図 7 (a) ~ (d) 中、「*」は p < 0 . 0 5 で有意差があることを示す。

【 0 1 5 6 】

ヒスタミン、クロロキン及び P A R 2 アゴニスト (S L I G R L - N H₂) の投与は、過去に報告された通り、T a c 2^{-/-} (4) マウスと T a c 2^{+/-} マウスに対して、搔破行動を引き起こした。I L - 3 1 の投与は、T a c 2^{+/-} マウスに対して搔破行動を引き起こしたが、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対しては、搔破行動をほとんど引き起こさないことが明らかになった。

【 0 1 5 7 】

上述と同様の実験を、T a c 2^{-/-} (1 5) マウスと T a c 2^{+/-} マウスに対して行った。搔破行動を解析した結果を図 8 に示す。図 8 (a) は、T a c 2^{-/-} (1

10

20

30

40

50

5) マウスに対してヒスタミンを投与した後の、搔破行動を解析した結果である。図8 (b)は、T a c 2^{-/-} (15) マウスに対してI L - 3 1を投与した後の、搔破行動を解析した結果である。

【0158】

T a c 2^{-/-} (4) マウスの場合と同様に、ヒスタミンの投与は、T a c 2^{-/-} (15) マウスに対して搔破行動を引き起こしたが、I L - 3 1の投与は、搔破行動をほとんど引き起こさないことが明らかになった。

【0159】

T a c 2^{-/-} (4) マウスをD o c k 8^{-/-} A N D T gマウスと交配することにより、T a c 2を発現した、又はT a c 2を発現しない(T a c 2^{-/-} (4)) D o c k 8^{-/-} A N D T gマウスを樹立し、皮膚組織、搔破行動及び血清中のI L - 3 1レベルを解析した。結果を図9に示す。

【0160】

図9 (a)は皮膚組織を、(b)は搔破行動を、(c)は血清I L - 3 1レベルを、T a c 2を発現した、又はT a c 2を発現しないD o c k 8^{-/-} A N D T gマウス間で比較した結果である。図9 (a) ~ (c)中、「*」はp < 0 . 0 5で有意差があることを示す。T a c 2がなくてもI L - 3 1のレベルに変化はないが、皮膚炎および搔破行動が顕著に改善することがわかる。

【0161】

[実験例8]

(ニューロキニンBの作用機序)

次に、N K Bが機能する部位を特定するために、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対してN K Bを髄腔内注射し、搔破行動を解析した。図10 (a)は、T a c 2^{-/-} (4) マウスに対してN K Bを髄腔内注射し、搔破行動を解析した結果である。

【0162】

T a c 2^{-/-} (4) マウスに対してN K Bタンパク質を髄腔内注射すると、搔破行動を引き起こすことが明らかになった。この結果は、N K Bは、末梢神経を活性化せずに、搔破行動を引き起こすことを示している。

【0163】

次に、N K B投与による搔破行動を引き起こす神経回路を解析した。G R P - サポリン又はN p p b - サポリンを野生型C 5 7 B L / 6マウスの髄腔内へ注射し、2週間後に、N K Bを注射し、搔破行動を解析した。

【0164】

図10 (b)は、G R P - サポリン又はN p p b - サポリンを注射後、N K Bを注射し、搔破行動を解析した結果である。図10 (a)、(b)中、「*」はp < 0 . 0 5で有意差があることを示し、「**」はp < 0 . 0 1で有意差があることを示す。

【0165】

G R P受容体を発現する神経細胞が除去されたマウスは、N K Bの投与後に搔破行動を示さないが、N p p b受容体を発現する神経細胞が除去されたマウスは、N K Bの投与後に搔破行動を示した。この結果から、N K Bは、G R Pの上流で機能し、I L - 3 1により誘起される痒みを伝達する、神経伝達物質であることが明らかになった。

【0166】

[実験例9]

(N K 3 Rの解析)

N K 3 Rの機能と局在を解析した。

【0167】

N K 3 R及びT R P V 1の発現は、次のように解析した。脊髄後角をマウスから摘出し、摘出した脊髄後角から切片を作製した。作製した切片を、抗N K 3 R抗体及び抗T R P V 1抗体を用いて、免疫組織化学により解析した。図11 (a)は、脊髄後角におけるN K 3 R及びT R P V 1の発現を解析した結果である。図11 (a)中、スケールバーは1

10

20

30

40

50

00 μm を示す。

【0168】

NK3Rは、主に脊髄後角のouter layer lamina Iにある神経細胞において発現することが明らかになった。

【0169】

次に、IL-31により誘起される痒みが、Neurokinin 3 receptor (NK3R)を介するか否かについて、解析した。

【0170】

IL-31を投与した後、脊髄後角にあるNK3Rを発現する神経細胞において、c-fosの活性化を解析した。結果を図11(b)に示す。

10

【0171】

図11(b)中、「DAPI」は、DAPIにより染色した図であり、「NK3R」は、抗NK3R抗体により免疫染色した図であり、「c-fos」は、抗c-fos抗体により免疫染色した図であり、「Merge」は、DAPI、抗NK3R抗体、及び抗c-fos抗体による免疫染色を重ね合わせた図である。その結果、NK3Rを発現する神経細胞において、IL-31の投与により、c-fosが活性化することが明らかになった。スケールバーは10 μm を示す。

【0172】

次に、NK3Rの選択的アンタゴニストであり、抗精神病薬である、オサネタントを、野生型C57BL/6マウスの腹腔内へ注射した後、IL-31、ヒスタミン又はクロロキンにより誘起される搔破行動に及ぼす影響を解析した。

20

【0173】

図11(c)は、オサネタント注射後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図11(d)は、オサネタント注射後にヒスタミンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図11(e)は、オサネタント注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図11(c)、(d)及び(e)中、「*」は $p < 0.05$ で有意差があることを示し、「**」は $p < 0.01$ で有意差があることを示す。

【0174】

その結果、オサネタントの投与は、IL-31による搔破行動の頻度を低下させたが、ヒスタミン及びクロロキンによる搔破行動の頻度は低下させないことが明らかになった。

30

【0175】

オサネタントと同様に、NK3Rの選択的アンタゴニストであるフェゾリネタントを、野生型C57BL/6マウスに経口投与した後、IL-31、ヒスタミン又はクロロキンにより誘起される搔破行動に及ぼす影響を解析した。

【0176】

図12(a)は、フェゾリネタントを経口投与後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図12(b)は、フェゾリネタント投与後にヒスタミンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図12(c)は、フェゾリネタント投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。

【0177】

その結果、フェゾリネタントの投与は、IL-31による搔破行動の頻度を低下させたが、ヒスタミン及びクロロキンによる搔破行動の頻度は低下させないことが明らかとなり、オサネタントを投与した場合と同様な結果が得られることが示された。

40

【0178】

さらに、他のNK3Rの選択的アンタゴニストであるタルネタント、パヴィネタント、SSR-146977及びSB-235375を、野生型C57BL/6マウスに投与した後、IL-31又はクロロキンにより誘起される搔破行動に及ぼす影響を解析した。

【0179】

図13(a)は、タルネタント注射後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図13(b)は、タルネタント注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析し

50

た結果を示す。図14(a)は、パヴィネタント注射後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図14(b)は、パヴィネタント注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図15(a)は、SSR-146977注射後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図15(b)は、SSR-146977注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図18(a)は、SB-235375を経口投与後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図18(b)は、SB-235375を経口投与後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。

【0180】

図13、14、15及び18に示される結果より、NK3Rの選択的アンタゴニストであるタルネタント、パヴィネタント、SSR-146977及びSB-235375の投与は、クロロキンによる搔破行動の頻度は低下させないが、IL-31による搔破行動の頻度を低下させることが明らかになった。これらの結果は、オサネタント及びフェゾリネタントを投与した場合に得られる結果と同一であった。

10

【0181】

さらに、ニューロキニン3受容体(NK3R)に対するアンタゴニストであるとともに、ニューロキニン1受容体(NK1R)及びニューロキニン2受容体(NK2R)に対するアンタゴニストでもあるCS-003、並びにNK3R及びNK2Rに対するアンタゴニストであるSSR-241586を、野生型C57BL/6マウスに投与した後、IL-31又はクロロキンにより誘起される搔破行動に及ぼす影響を解析した。

20

【0182】

図16(a)は、SSR-241586注射後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図16(b)は、SSR-241586注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図17(a)は、CS-003注射後にIL-31を投与し、搔破行動を解析した結果を示す。図16(b)は、CS-003注射後にクロロキンを投与し、搔破行動を解析した結果を示す。

【0183】

図16及び17に示される結果より、NK3Rの非選択的アンタゴニストであっても、NK3Rアンタゴニストとしての活性を有する化合物は、クロロキンによる搔破行動の頻度は低下させないが、IL-31による搔破行動の頻度を低下させることが明らかになった。

30

【0184】

なお、図12~図18の各図において、「*」は $p < 0.05$ で有意差があることを示し、「**」は $p < 0.01$ で有意差があることを示す。

【0185】

小括すると、IL-31の投与により、NK3Rを発現する神経細胞が活性化することが明らかになった。また、NK3Rの薬理的な障害は、IL-31による搔破行動を選択的に抑制することが明らかになった。

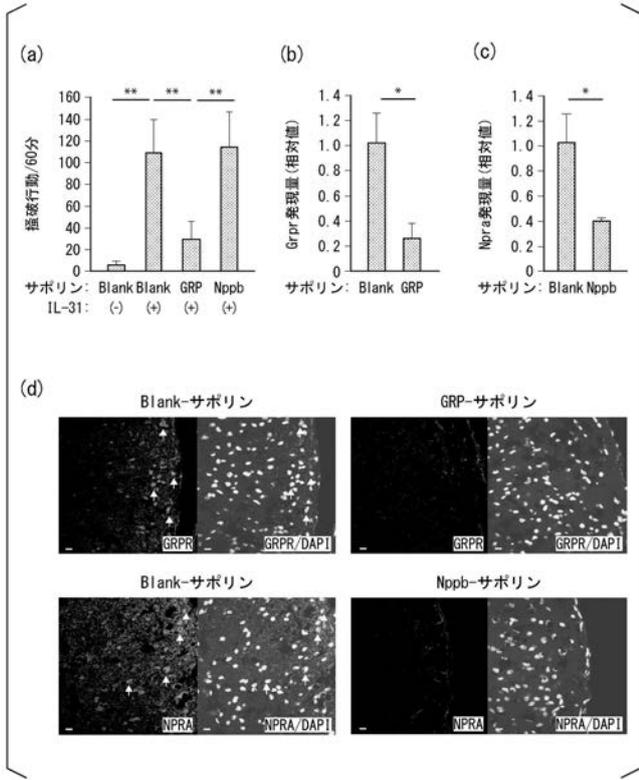
【産業上の利用可能性】

【0186】

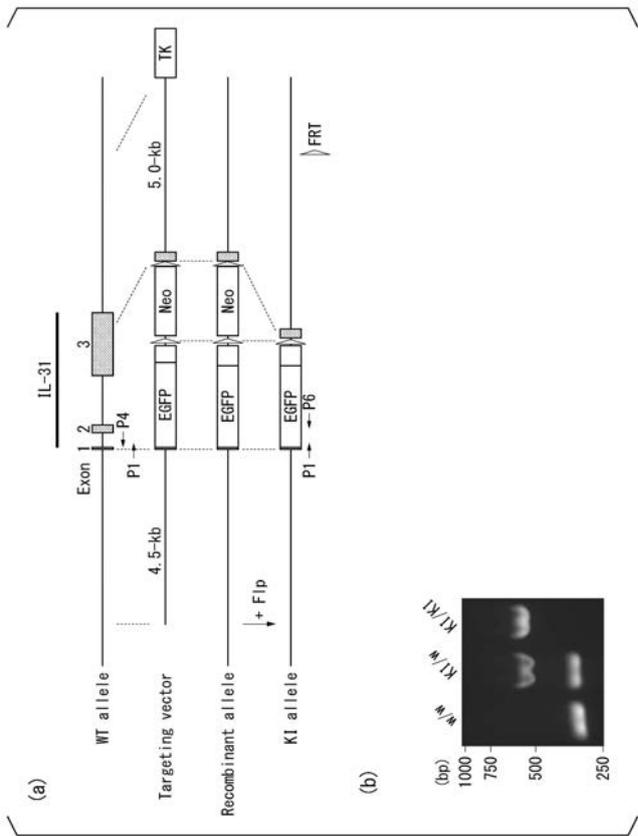
本発明によれば、ニューロキニンBシグナル遮断剤を有効成分として含む、IL-31介在性疾患の予防又は治療剤を提供することができる。

40

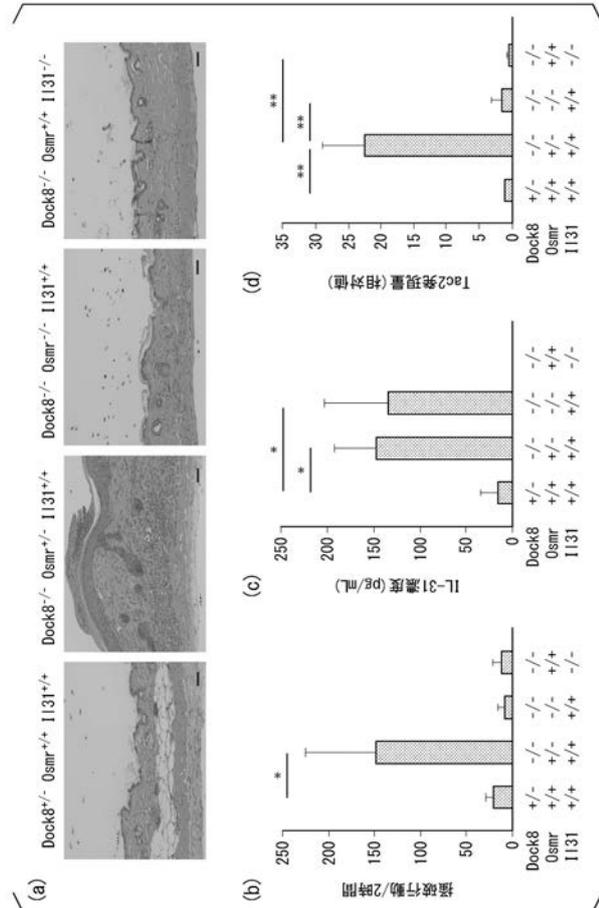
【 図 1 】



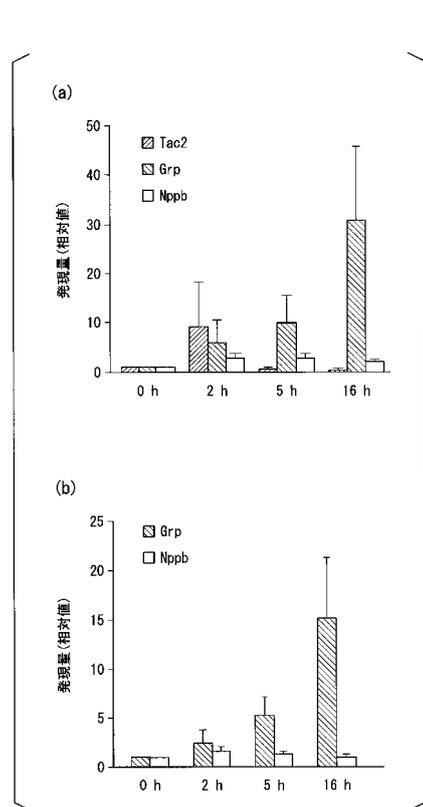
【 図 2 】



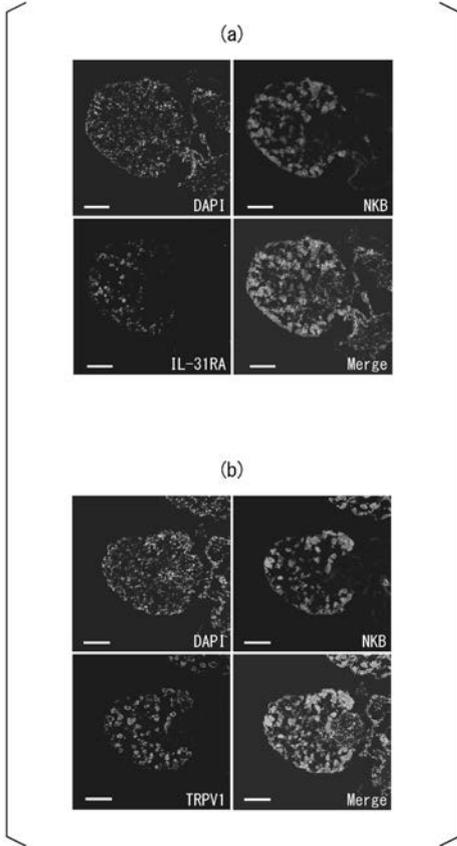
【 図 3 】



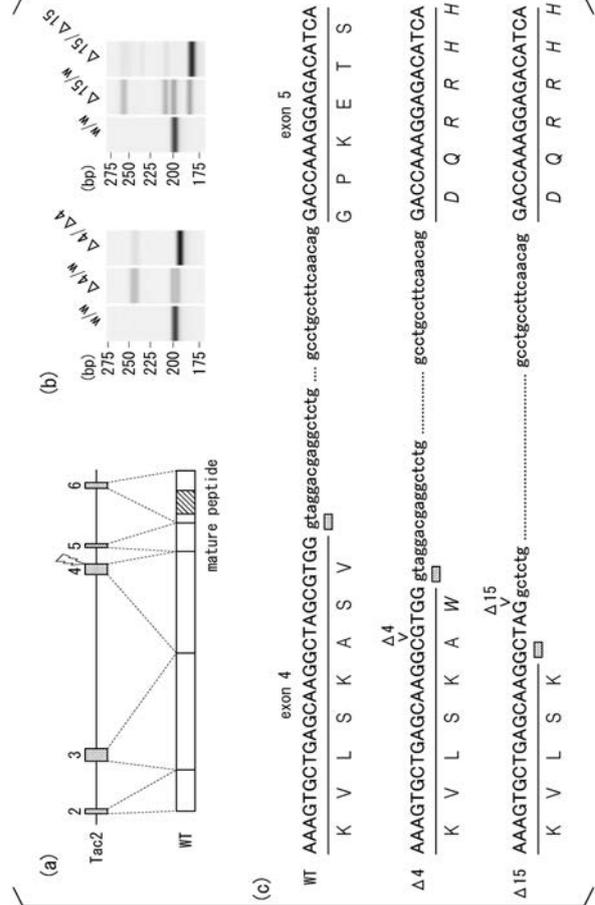
【 図 4 】



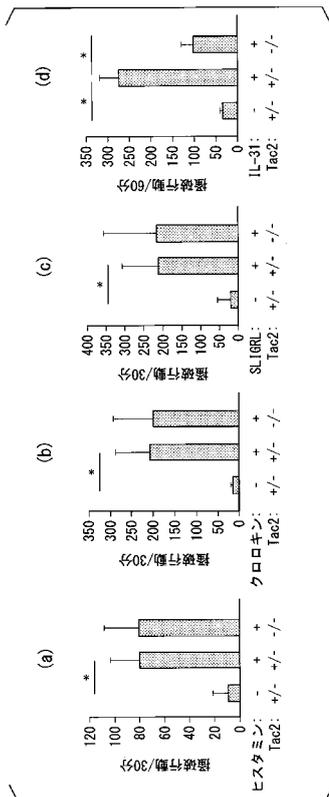
【 図 5 】



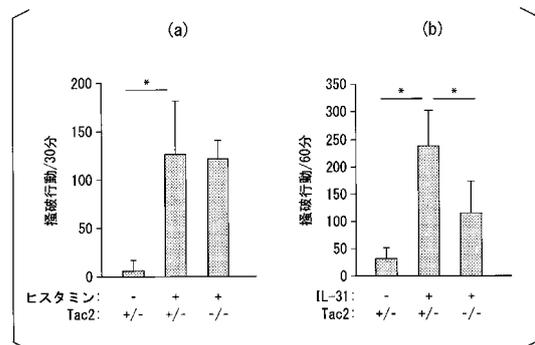
【 図 6 】



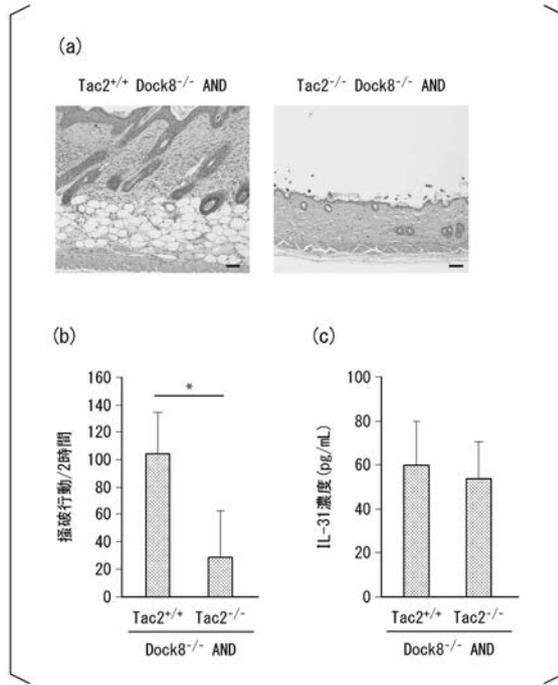
【 図 7 】



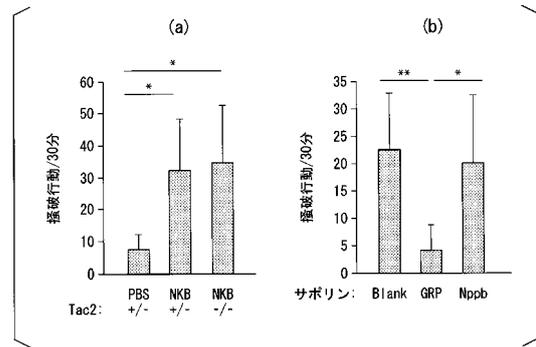
【 図 8 】



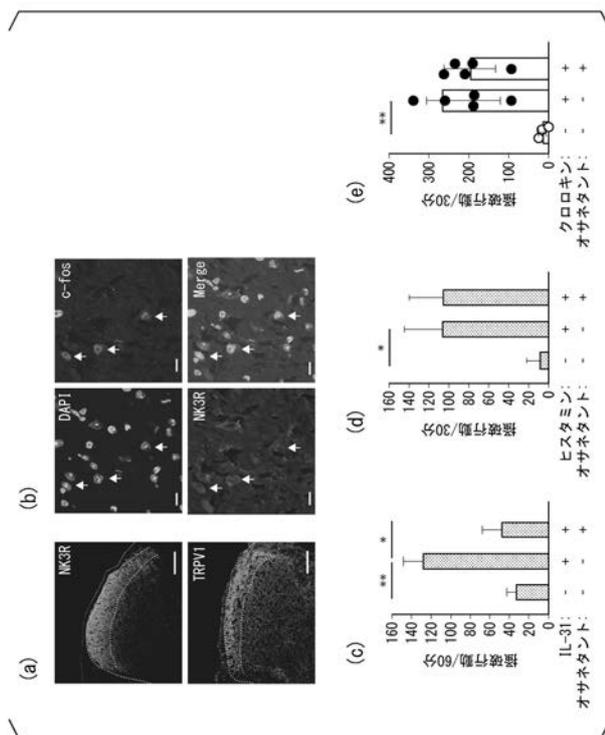
【 図 9 】



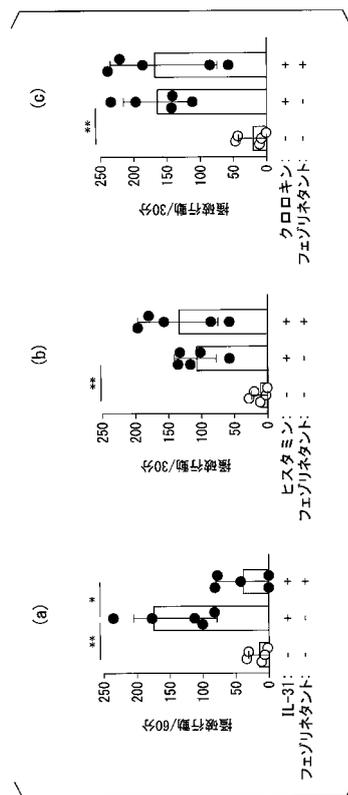
【 図 10 】



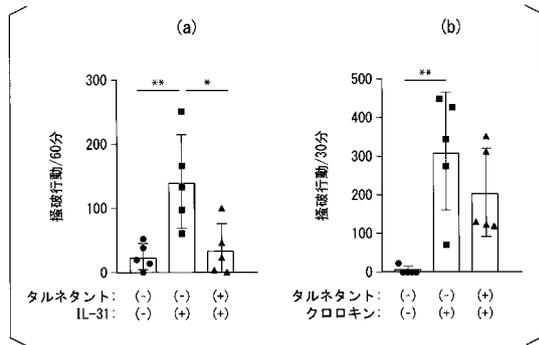
【 図 11 】



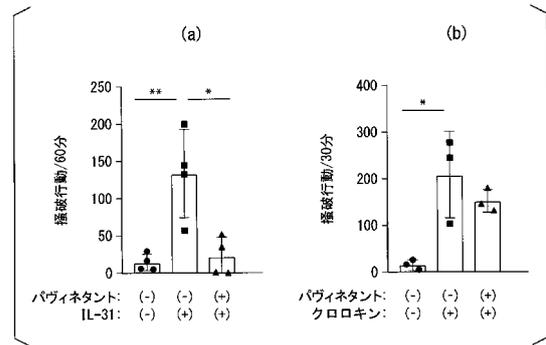
【 図 12 】



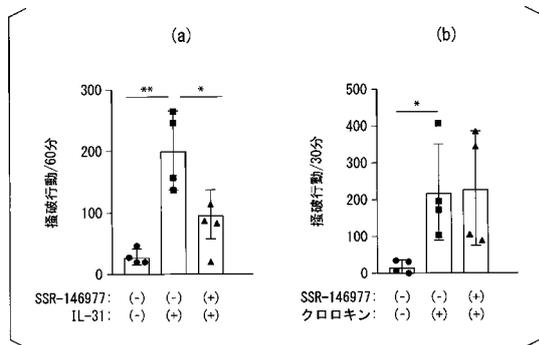
【 図 1 3 】



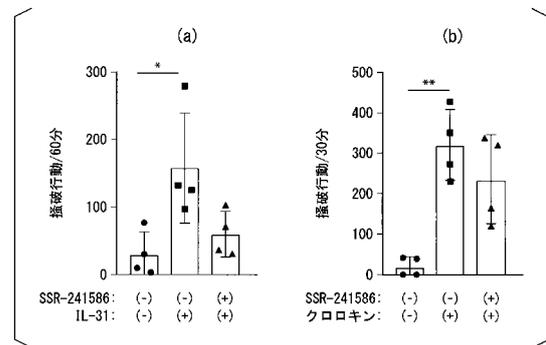
【 図 1 4 】



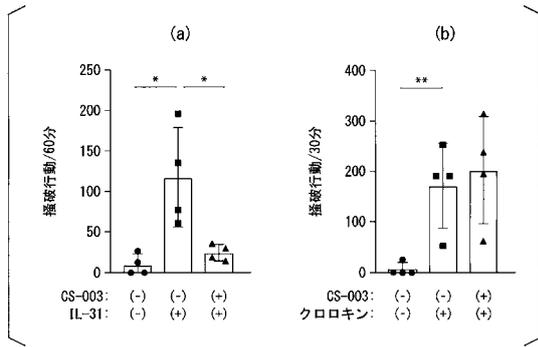
【 図 1 5 】



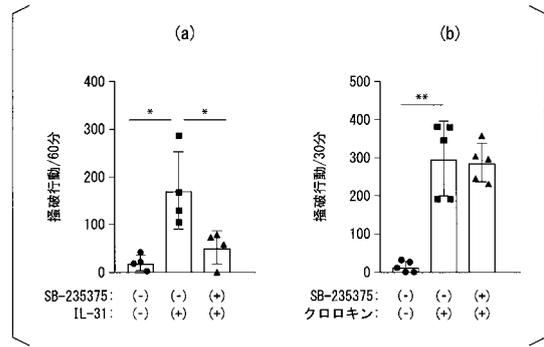
【 図 1 6 】



【 図 1 7 】



【 図 1 8 】



【 配 列 表 】

2020101017000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2019/044886												
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/4545(2006.01)i; A61K 31/47(2006.01)i; A61K 31/4985(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; A61P 17/04(2006.01)i; A61K 47/64(2017.01)i; A61K 38/16(2006.01)i FI: A61K45/00; A61P17/04; A61P43/00 111; A61K31/4545; A61K31/47; A61K31/4985; A61K47/64; A61K38/16 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K31/4545; A61K31/47; A61K31/4985; A61K45/00; A61P43/00; A61P17/04; A61K47/64; A61K38/16 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2020 Registered utility model specifications of Japan 1996-2020 Published registered utility model applications of Japan 1994-2020 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Category*</th> <th style="width: 70%;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="width: 20%;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">X</td> <td>JP 2007-126475 A (SMITHKLINE BEECHAM FARMACEUTICI S.P.A.) 24.05.2007 (2007-05-24) paragraphs [0002], [0004]</td> <td style="text-align: center;">1-4, 14-16, 21-22</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Y</td> <td></td> <td style="text-align: center;">5-13</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td></td> <td style="text-align: center;">17-20</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	JP 2007-126475 A (SMITHKLINE BEECHAM FARMACEUTICI S.P.A.) 24.05.2007 (2007-05-24) paragraphs [0002], [0004]	1-4, 14-16, 21-22	Y		5-13	A		17-20
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
X	JP 2007-126475 A (SMITHKLINE BEECHAM FARMACEUTICI S.P.A.) 24.05.2007 (2007-05-24) paragraphs [0002], [0004]	1-4, 14-16, 21-22												
Y		5-13												
A		17-20												
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.												
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family												
Date of the actual completion of the international search 20 January 2020 (20.01.2020)		Date of mailing of the international search report 04 February 2020 (04.02.2020)												
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/044886

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	間越祐貴, Interleukin-31 による痒み反応発生への脊髄伝達機構に関する解析, 日本薬学会北陸支部総会及び例会プログラム・講演要旨集, 2016, 128th, page 58, entire text, non-official translation (MAKOSHI, Yuki, "Analysis of spinal cord transmission mechanism to itching reaction occurrence by Interleukin-31", Programs and lecture abstracts of the Hokuriku branch general conference and the regular conference of the Pharmaceutical Society of Japan)	1-3, 17-18, 20, 22 19 4-16
Y	JP 2016-534043 A (SYNERGY PHARMACEUTICALS, INC.) 04.11.2016 (2016-11-04) paragraph [0188]	5-13
Y	JP 2007-8922 A (SANKYO CO., LTD.) 18.01.2007 (2007-01-18) claim 1, paragraph [0001]	5-13
Y	JP 2002-527423 A (SANOFI-SYNTHELABO) 27.08.2002 (2002-08-27) claim 1, paragraph [0001]	5-13
Y	JP 2018-507874 A (OGEDA SA) 22.03.2018 (2018-03-22) claim 2(e)	5-13
Y	WO 2006/135783 A2 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 21.12.2006 (2006-12-21) paragraph [0015]	5-13
Y	HOVEYDA, HR. et al., "Optimization of Novel Antagonists to the Neurokinin-3 Receptor for the Treatment of Sex-Hormone Disorders (Part II)", ACS Medicinal Chemistry Letters, 2015, vol. 6, pp. 736-740, abstract, fig. 1	19
Y	JP 2018-514520 A (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE) 07.06.2018 (2018-06-07) claims 25-27	19
P, X	JP 2016-534051 A (FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.) 04.11.2016 (2016-11-04) claim 12 SAKATA, D. et al., "Selective role of neurokinin B in IL-31-induced itch response in mice", THE JOURNAL OF Allergy and Clinical Immunology, 09 August 2019, 144(4), 1130-1133.e8, entire text	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2019/044886

Patent referred in the Report	Documents in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2007-126475 A		24 May 2007	US 2006/0160846 A1 claim 17 WO 1995/032948 A1 EP 804419 A1 CN 1156451 A	
JP 2016-534043 A		04 Nov. 2016	US 2016/0235807 A1 paragraph [0227] WO 2015/054500 A2 EP 3065757 A2 (Family: none)	
JP 2007-8922 A		18 Jan. 2007	US 6465489 B1 claim 1, column 1, lines 7-16 WO 2000/021931 A1 EP 1119552 A1 CN 1329594 A	
JP 2002-527423 A		27 Aug. 2002	US 2018/0289705 A1 claim 19(e) WO 2016/146712 A1 EP 3271015 A1 KR 10-2017-0124566 A CN 107405347 A	
JP 2018-507874 A		22 Mar. 2018	US 2006/0281670 A1 WO 2016/164502 A1 claims 25-27 EP 3280720 A1 KR 10-2018-0026370 A CN 108137648 A	
WO 2006/135783 A2		21 Dec. 2006	US 2016/0324982 A1 WO 2015/001078 A1 claim 12 EP 3016983 A1 KR 10-2016-0029027 A US 2016/0152724 A1	
JP 2018-514520 A		07 Jun. 2018		
JP 2016-534051 A		04 Nov. 2016		

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2019/044886

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 31/4545(2006.01)i; A61K 31/47(2006.01)i; A61K 31/4985(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; A61P 17/04(2006.01)i; A61K 47/64(2017.01)i; A61K 38/16(2006.01)i FI: A61K45/00; A61P17/04; A61P43/00 111; A61K31/4545; A61K31/47; A61K31/4985; A61K47/64; A61K38/16		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K31/4545; A61K31/47; A61K31/4985; A61K45/00; A61P43/00; A61P17/04; A61K47/64; A61K38/16 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2020年 日本国実用新案登録公報 1996-2020年 日本国登録実用新案公報 1994-2020年 国際調査で使用了電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII); CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOISIS/WPIDS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2007-126475 A (スミスクライン・ピーチャム・ファーマシューティチ・ソシエ タ・パル・アチオニ) 24.05.2007 (2007-05-24) [0002], [0004]	1-4, 14-16, 21-22
Y		5-13
A		17-20
X	間越祐貴, Interleukin-31による痒み反応発生への脊髄伝達機構に関する解析, 日本 薬学会北陸支部総会及び例会プログラム・講演要旨集, 2016, 128th, 58ページ 全文	1-3, 17-18, 20-22
Y		19
A		4-16
Y	JP 2016-534043 A (シナジー ファーマシューティカルズ インコーポレイテッド) 04.11.2016 (2016-11-04) [0188]	5-13
Y	JP 2007-8922 A (三共株式会社) 18.01.2007 (2007-01-18) 請求項1, [0001]	5-13
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。
* 引用文献のカテゴリー	"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵 触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引 用するもの	
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性 又は進歩性がないと考えられるもの	
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に 公表されたもの	"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献 との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がな いと考えられるもの	
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若し くは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を 付す）	"G" 同一パテントファミリー文献	
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の 後に公表された文献		
国際調査を完了した日 20.01.2020	国際調査報告の発送日 04.02.2020	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 山村 様子 4U 9217 電話番号 03-3581-1101 内線 3439	

国際調査報告

国際出願番号

PCT/JP2019/044886

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2002-527423 A (サノフィー-サンテラボ) 27.08.2002 (2002 - 08 - 27) 請求項 1, [0001]	5-13
Y	JP 2018-507874 A (オゲダ エス. エー.) 22.03.2018 (2018 - 03 - 22) 請求項 2 (e)	5-13
Y	WO 2006/135783 A2 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 21.12.2006 (2006 - 12 - 21) [0015]	5-13
Y	HOVEYDA HR. et al., Optimization of Novel Antagonists to the Neurokinin-3 Receptor for the Treatment of Sex-Hormone Disorders(Part II), ACS Medicinal Chemistry Letters, 2015, Vol.6, p.736-740, ABSTRACT, Figure.1	5-13
Y	JP 2018-514520 A (プレジデント アンド フェローズ オブ ハーバード カレッジ) 07.06.2018 (2018 - 06 - 07) 請求項 2 5 - 2 7	19
Y	JP 2016-534051 A (フラウンホーファー-ゲゼルシャフト ツァー フォルデルング デア アンゲバンデン フォルシュング エー. ファオ.) 04.11.2016 (2016 - 11 - 04) 請求項 1 2	19
P, X	SAKATA D. et al., Selective role of neurokinin B in IL-31-induced itch response in mice,, THE JOURNAL OF Allergy and Clinical Immunology, 2019.08.09, 144(4), 1130-1133.e8 全文	1-22

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2019/044886

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2007-126475 A	24.05.2007	US 2006/0160846 A1 クレーム17	
		WO 1995/032948 A1	
		EP 804419 A1	
		CN 1156451 A	
JP 2016-534043 A	04.11.2016	US 2016/0235807 A1 [0227]	
		WO 2015/054500 A2	
		EP 3065757 A2	
JP 2007-8922 A	18.01.2007	(ファミリーなし)	
JP 2002-527423 A	27.08.2002	US 6465489 B1 クレーム1, 1欄7-16行	
		WO 2000/021931 A1	
		EP 1119552 A1	
		CN 1329594 A	
JP 2018-507874 A	22.03.2018	US 2018/0289705 A1 クレーム19(e)	
		WO 2016/146712 A1	
		EP 3271015 A1	
		KR 10-2017-0124566 A	
		CN 107405347 A	
WO 2006/135783 A2	21.12.2006	US 2006/0281670 A1	
JP 2018-514520 A	07.06.2018	WO 2016/164502 A1 クレーム25-27	
		EP 3280720 A1	
		KR 10-2018-0026370 A	
		CN 108137648 A	
		US 2016/0324982 A1	
JP 2016-534051 A	04.11.2016	WO 2015/001078 A1 クレーム12	
		EP 3016983 A1	
		KR 10-2016-0029027 A	
		US 2016/0152724 A1	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 K 31/4545 (2006.01)	A 6 1 K 31/4545	
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
A 6 1 K 31/438 (2006.01)	A 6 1 K 31/438	
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	
A 6 1 K 31/4985 (2006.01)	A 6 1 K 31/4985	
A 6 1 K 47/54 (2017.01)	A 6 1 K 47/54	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 47/64	
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	
C 0 7 K 14/715 (2006.01)	C 0 7 K 14/715	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

特許法第30条第2項適用申請有り ・ウェブサイトへの掲載: Journal of Allergy and Clinical Immunology, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.06.031> 掲載年月日: 令和1年8月9日 ・論文誌への掲載: Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2019 Oct; 144(4): 1130-1133. 発行日: 令和1年10月1日 Elsevier Inc.

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1. TWEEN

(出願人による申告) 平成31年度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構委託研究、革新的先端研究開発支援事業インキュベートタイプ(LEAP)「DOCKファミリー分子の生体機能と動作原理の理解に基づく革新的医薬品の創出」産業技術力強化法第17条の適用を受ける特許出願

(72) 発明者 福井 宣規
福岡県福岡市西区元岡744 国立大学法人九州大学内

(72) 発明者 坂田 大治
福岡県福岡市西区元岡744 国立大学法人九州大学内

(72) 発明者 宇留野 武人
福岡県福岡市西区元岡744 国立大学法人九州大学内

(72) 発明者 安東 嗣修
富山県富山市杉谷2630 国立大学法人富山大学内

Fターム(参考) 4C076 CC09 CC18 EE59

4C084 AA17 BA44 DA33 DA34 NA14 ZA89 ZA94 ZB13 ZC01 ZC20
ZC42

4C086 AA01 AA02 BC21 BC28 BC73 CB05 CB26 ZA89 ZA94 ZB13
ZC01 ZC20 ZC42

4H045 AA30 BA10 CA40 DA02 DA50 EA20 EA50 FA74

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。