

環状ヌクレオチドの制御と創薬研究



企業レポート

赤塚 浩之*, 小寺 淳**

Regulation of cyclic nucleotides and drug discovery.

Key Words : PDE5, cGMP, Cyclic nucleotide, Drug discovery, Avanafil

1. はじめに

細胞内セカンドメッセンジャーとして知られている環状アデノシンモノリン酸（以下 cAMP）および環状グアノシンモノリン酸（以下 cGMP）は、様々な外部環境の変化を細胞内に伝達し、血圧、免疫反応、神経の可塑性、視覚および生殖機能の調節に関与している。そのため、細胞内の cAMP および cGMP 量の調節は各種疾患の治療につながると考えられ、これまで活発に研究が続けられてきた。本稿では、その加水分解酵素である環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ（以下 PDE）をターゲットにした医薬品の創薬研究に関して解説したい。

2. 環状ヌクレオチドの産生系

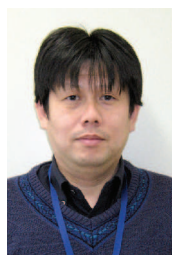
細胞内の cAMP は、G タンパク質共役型受容体（G protein - coupled receptor）にホルモン、神経伝達物質などのリガンドが結合した際に生じる活性化 G

蛋白質によって活性化されたアデニル酸シクラーゼ（Adenylyl cyclase, AC）により ATP から産生される。細胞内に産生された cAMP は cAMP 依存性タンパク質リン酸化酵素（cAMP- dependent protein kinase, PKA）や cAMP 作動性チャネルあるいは調節性グアニンヌクレオチド交換因子といった標的タンパク質を活性化し、細胞内シグナルが伝達される。

cGMP は、GTP からグアニル酸シクラーゼ（Guanylyl cyclase, GC）によって産生される。グアニル酸シクラーゼは、一酸化窒素により活性化される細胞質型とナトリウム利尿ペプチド受容体である膜結合型に大きく分類されている。生成した cGMP は cGMP 依存性タンパク質リン酸化酵素（cGMP- dependent protein kinase, PKG）や cGMP 作動性チャネルに作用し、細胞内シグナルが伝達される（図 1）。

3. 環状ヌクレオチド分解系

環状ヌクレオチドを介したシグナル伝達の調節には、上記の産生系に加え PDE による分解系が大きく関与している。PDE は cAMP および cGMP をそれぞれ 5'AMP および 5'GMP に分解する加水分解酵素であり（図 1）、酵素化学的性質、触媒部位のアミノ酸配列の相同性、およびいくつかの構造モチーフ（カルモジュリン結合ドメイン、cGMP binding and stimulated phosphodiesterases, Anabaena adenylyl cyclases, and Escherichia coli FhlA (GAF) ドメイン、Per-Arnt-Sim (PAS) ドメイン等）によって PDE1 から PDE11 まで 11 種類のファミリーに分類される（1）（表 1）。それぞれのファミリーにはアミノ酸配列の相同性が高い 1～4 つのアイソザイムが存在し、PDE ファミリー全体としては 21 遺伝子から構成されている。さらに各 PDE 遺伝子には、ユニークな N 末端配列や C 末端配列を有するスプ



* Hiroyuki AKATSUKA

1965年3月生
大阪大学大学院 工学研究科 醗酵工学
専攻 修士課程修了（1989年）
現在、田辺三菱製薬株式会社 研究本部
先端医療研究所 第二部 部長
博士（工学） 分子生物学、細胞生物学
TEL：048-433-8118
FAX：048-433-8159
E-mail：akatsuka.hiroyuki@mb.mt-pharma.co.jp



** Jun KOTERA

1969年2月生
京都大学大学院 農学研究科 食品工学
専攻 修士課程修了（1993年）
現在、田辺三菱製薬株式会社 研究本部
先端医療研究所 第二部 マネージャー
博士（農学） 分子生物学、細胞生物学
TEL：045-963-4897
FAX：045-963-4662
E-mail：kotera.jun@mk.mt-pharma.co.jp

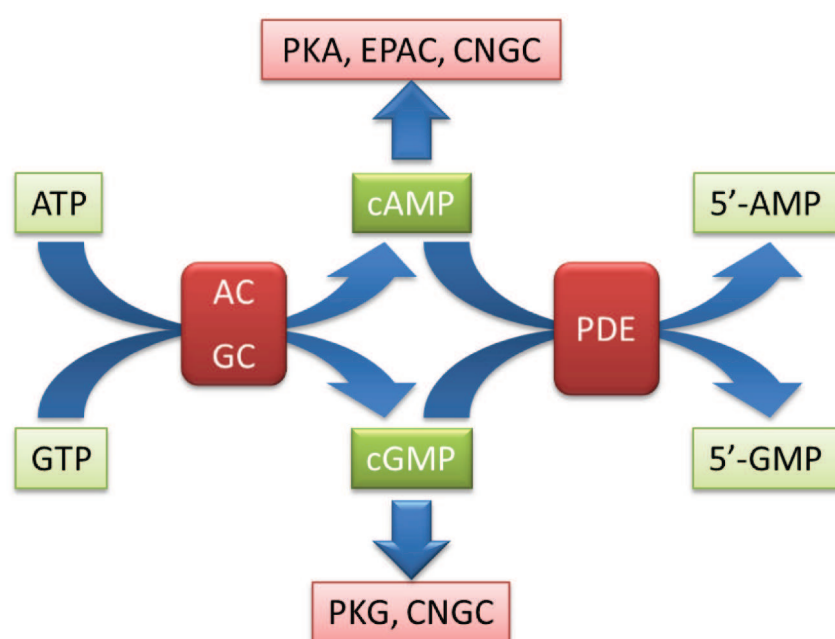


図1. 環状ヌクレオチドの産生と分解

AC: Adenylyl cyclase, GC: Guanylyl cyclase, CNGC: Cyclic nucleotide gated Channels, PKA: cAMP- dependent protein kinase, PKG: cGMP- dependent protein kinase, EPAC: Exchange protein activated by cAMP

表1. PDE スーパーファミリーの性質

Gene Family	Gene	Chromosomal Localization	Substrate	Relevance	Major Tissue Expression
PDE1	PDE1A	2q32.1	cAMP cGMP	Calcium/calmodulin regulated	Brain, smooth muscle, heart, testis
	PDE1B	12q13			
	PDE1C	7p15.1-p14.3			
PDE2	PDE2A	11q13.4	cAMP cGMP	cGMP stimulated	Adrenal cortex, brain, heart
PDE3	PDE3A	12p12	cAMP cGMP	cGMP inhibited	Heart, smooth muscle, adipose tissue, platelets
	PDE3B	11p15.1			
PDE4	PDE4A	19p13.2	cAMP	cAMP specific	Ubiquitous
	PDE4B	1p31			
	PDE4C	19p13.11			
	PDE4D	5q12			
PDE5	PDE5A	4q25-q27	cGMP	cGMP binding, cGMP specific	Smooth muscle, platelets, cerebellum
PDE6	PDE6A	5q31.2-q34	cGMP	Photoreceptor	Retina
	PDE6B	4p16.3			
	PDE6C	10q24			
PDE7	PDE7A	8q13	cAMP	Rolipram insensitive	Skeletal muscle, immune cells, brain
	PDE7B	6q23-q24			
PDE8	PDE8A	15q25.3	cAMP	cAMP specific	Immune cells, liver, kidney, testis, thyroid
	PDE8B	5q14.1			
PDE9	PDE9A	21q22.3	cGMP	cGMP specific	Brain, kidney
PDE10	PDE10A	6q26	cAMP cGMP	cAMP inhibited, dual substrate	Brain, testis
PDE11	PDE11A	2q31.2	cAMP cGMP	Dual substrate	Prostate, testis, skeletal muscle

ライソバリエントが存在しており、それぞれの遺伝子あるいはスプライソバリエントによって、特異的な組織発現や細胞内局在、特定のタンパク質との相

互作用などが報告されていることから、各々が特定の細胞内シグナルに関与していると考えられている。

4. PDE 阻害剤と医薬品

PDE を標的にした特異的な PDE 阻害薬として、いくつかの医薬品が上市されている。

PDE3 阻害薬である milrinone (MilrilaTM) は強心作用を有し、急性心不全治療薬として使用されている。一方で、同じく PDE3 阻害薬である cilostazol (PletaalTM) は血小板および血管平滑筋に作用し、抗血小板作用、抗血栓作用、血管拡張作用に基づいた慢性動脈閉塞症治療薬として使用されており、米国では間歇性跛行の治療薬としても承認されている。Cilostazol は milrinone に比べ強い強心作用は示さず、循環器系への影響の少ない PDE3 阻害薬として知られている。

PDE4 は炎症細胞に存在することが知られており、PDE4 阻害薬は細胞内 cAMP 濃度を上昇させることで炎症細胞の活性化例えば各種メディエーター遊離やサイトカイン産生を抑制することから、主に、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) や気管支喘息の治療薬として用いられており、roflumilast (DaxasTM) が EU や米国で使用されている。

PDE5 阻害薬は、平滑筋を弛緩させ局所的な血流量を増大させることから、男性性機能障害治療薬として有効であり、これまで、sildenafil (ViagraTM) が 1999 年から、vardenafil (LevitraTM) が 2004 年から、tadalafil (CialisTM) が 2007 年から国内で販売されている。これらの 3 剤はそれぞれの特徴はあ

るものの、いずれも最大血中濃度に達するまでに時間がかかるために (60 分～2 時間) 効果発現に要する時間が遅く、半減期が長い (4 時間～17.5 時間) 作用持続が長いという共通の性質をもっている (2)。また、副作用として、ほてりや頭痛がいずれの薬剤も認められることに加え、特有の副作用として sildenafil は PDE6 阻害 (表 2) による色覚異常が報告されており、vardenafil では QT 延長、骨格筋や精巣に発現している PDE11 に比較的強い阻害活性を示す tadalafil は (表 2)、背部痛が報告されている (3)。このように sildenafil, vardenafil, tadalafil はいずれも PDE に対する選択性が十分ではなく、メカニズムベースの副作用も報告されている。

5. 新規 PDE5 阻害薬の開発

田辺三菱製薬では、PDE5 を標的にした創薬研究を進め、循環動態や眼に対する副作用を軽減し、作用発現が早く (即効性)、かつ作用持続が短い (短時間作用) 薬剤をめざした創薬研究を行った。副作用軽減に関しては、11 種類の PDE の阻害活性を確認しながら、PDE5 への選択性を向上させた (4) (表 2)。即効性や短時間作用に関しては、代謝を受けやすい官能基の導入などにより、消化管からの吸収および組織移行性が早く、作用持続が短いといった性質を持つ avanafil を創製することに成功した (4, 5)。その後、avanafil は、安全で使いやすい PDE5 阻害

表 2. PDE5 阻害薬の活性と選択性

	Mean nM IC50 (Fold difference of PDE selectivity against PDE5)			
	Avanafil	Sildenafil	Vardenafil	Tadanafil
PDE1	53000 (10192)	600 (375)	85 (1012)	42000 (10500)
PDE2	51000 (9808)	63000 (39375)	23000 (283810)	>100000 (>25000)
PDE3	>100000 (>19231)	26000 (16250)	2200 (26190)	>100000 (>25000)
PDE4	5700 (1096)	5000 (3125)	1200 (14286)	59000 (14750)
PDE5	5.2 (1)	1.6 (1)	0.084 (1)	4 (1)
PDE6	630 (121)	25 (16)	1.8 (21)	2200 (550)
PDE7	27000 (5192)	22000 (13750)	1500 (17857)	>100000 (>25000)
PDE8	12000 (2308)	>100000 (>62500)	84000 (1000000)	>100000 (>25000)
PDE9	>100000 (>19231)	3600 (2250)	1400 (16667)	>100000 (>25000)
PDE10	6200 (1192)	5400 (3375)	1500 (17857)	35000 (8750)
PDE11	>100000 (>19231)	7800 (4875)	500 (5952)	100 (25)

薬として、米国 Vivus 社および韓国 JWP 社に導出された。これまで、2011 年に韓国で承認され製品名 Zepeed® として販売が開始されている。また、2012 年には米国、2013 年には欧州で承認され、それぞれ製品名 Stendra™ および Spedra™ として販売の準備が進んでいる。

6. おわりに

PDE ファミリーは細胞内のセカンドメッセンジャーである cAMP, cGMP を制御することから古くから創薬のターゲットとして研究されていた。これまでに、PDE3,4,5 阻害薬が上市されているが、PDE10 阻害薬は統合失調症やハンチントン舞踏病などで臨床試験が進められている。また、PDE はセカンドメッセンジャーの量を調節し、複数のシグ

ナル系を同時に制御できるため、抗癌剤のターゲットとしての可能性も検討されている。PDE に関する研究は、現在も活発に進められており、今後も新たな PDE 阻害薬が開発・上市されることを期待したい。

参考文献

- 1) Omori, K. and J. Kotera, *Circulation Res.*, 100, 309-327 (2007)
- 2) Kloner R.A., *Circulation*, 110, 3149-3155, (2004)
- 3) Limin M., et al., *Expert Opin. Investig. Drugs*, 19, 1427-1437, (2010)
- 4) Kotera J. et al., *J. Urol.*, 188, 668-674 (2012)
- 5) 山田幸一郎, *MEDCHEM NEWS*, No.4, 20-29 (2013)

