

## 学位論文題名

Pharmacological profile of a novel phosphodiesterase  
(PDE) 7A and PDE4 dual inhibitor, YM-393059.

(環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ阻害薬 (YM-393059) に  
関する薬理学的研究)

## 学位論文内容の要旨

環状アデノシンモノフォスフェート(adenosine 3',5'-cyclic monophosphate ; cAMP)は細胞と様々なホルモン、神経伝達物質あるいは炎症惹起物質の応答を介在する情報伝達物質であり、その細胞内濃度調節に関わる酵素群として環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ(phosphodiesterase ; PDE)が知られている。PDEは現時点で少なくとも11種類のアイソザイムが存在し、それぞれ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。近年同定されたPDE7は、PDE7A及び7Bの2種類のアイソタイプを有し、特にPDE7Aは胸腺、脾臓及びリンパ節などの免疫組織、あるいはリンパ球に特異的な発現が認められることから、新規抗炎症薬の標的分子候補として考えられる。そこで、PDE7A阻害薬を創製する目的で、ハイスループットスクリーニングを実施し、新規PDE阻害薬であるYM-393059を見出した。

YM-393059はPDE7Aに対し強い阻害作用を有し( $IC_{50} = 14 \text{ nM}$ )、PDE4に対しても中庸度の阻害作用を有する( $IC_{50} = 630 \text{ nM}$ )が、PDE1、PDE2、PDE3及びPDE5に対しては $10 \mu\text{M}$ でも阻害作用を示さなかった。YM-393059は抗 cluster of differentiation (CD)3 抗体、*Staphylococcal enterotoxin B* 及びフィトヘマグルチニン刺激によるマウス脾細胞からのインターロイキン(interleukin ; IL)-2 産生を濃度依存的に抑制し、その  $IC_{50}$  値はそれぞれ 0.48、1.1 及び 0.75  $\mu\text{M}$  であった。また、YM-393059は抗 CD3 抗体刺激によるマウス脾細胞からのインターフェロン(interferon ; IFN)- $\gamma$  及び IL-4 産生も濃度依存的に抑制し、その  $IC_{50}$  値はそれぞれ 1.8 及び 2.8  $\mu\text{M}$  であった。すなわち、YM-393059はヘルパーT細胞(Th)1及びTh2サイトカイン産生を共に抑制した。*In vivo*におけるT細胞由来サイトカイン産生に対するYM-393059の作用について、マウス血清中IL-2量を指標に検討したところ、YM-393059は抗CD3抗体により誘導されるIL-2量を用量依存的に抑制し、その  $ED_{50}$  値は76 mg/kgであった。同様に、YM-393059はリポ多糖体(lipopolysaccharide ; LPS)により誘導されるマウス血清中腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor ; TNF)- $\alpha$  量も用量依存的に抑制し、その  $ED_{50}$  値は2.1 mg/kgであった。YM-393059はLPSにより誘導される血清中IL-1 $\beta$  量も用量依存的に抑制したが( $ED_{50} = 11.8 \text{ mg/kg}$ )、IL-6 量に対してはほとんど影響を与えなかった。YM-393059

はT細胞由来サイトカインに対する抑制作用に併せて、炎症性サイトカインであるTNF- $\alpha$ 及びIL-1 $\beta$ 産生に対する抑制作用も有することが明らかとなった。

次に、YM-393059の抗炎症薬としてのプロファイルを明らかにするため、種々の炎症モデルにおけるYM-393059の作用を検討した。急性炎症モデルにおいては、YM-393059はヒツジ赤血球に対するマウス遅延型過敏性反応を用量依存的に抑制し、そのED<sub>50</sub>値は17.1 mg/kgであった。したがって、YM-393059は*in vivo*においてTh1細胞が関与する細胞性免疫反応を抑制すると考えられる。YM-393059はラットカラゲニン足浮腫モデルに対し、100 mg/kgにおいても有意な抑制作用を示さなかったことから、YM-393059の血管透過性に及ぼす影響は軽微であると考えられる。また、YM-393059はマウスザイモザン腹膜炎モデルにおいて、好中球浸潤を用量依存的に抑制し、そのED<sub>50</sub>値は25.7 mg/kgであった。すなわち、YM-393059は好中球の活性化を抑制すると考えられる。慢性炎症モデルにおいては、YM-393059はマウス toluene-2,4-diisocyanate 誘発接触皮膚炎の耳介腫脹を30 mg/kgにおいて有意に抑制した。同モデルにおいて血清中に上昇したIgE量をサイクロスポリンは有意に増加させるのに対し、YM-393059はむしろ抑制傾向を示したことから、YM-393059は*in vivo*においてTh1及びTh2細胞が関与する免疫応答を共に抑制すると考えられる。

これらの*in vitro*及び*in vivo*成績より明らかとなったYM-393059のプロファイルは、炎症・アレルギー性疾患あるいは自己免疫疾患の治療薬として有望と考えられる。そのため、炎症性・自己免疫疾患の1つである関節リウマチ治療薬としてのYM-393059の可能性を検討した。YM-393059は関節リウマチの実験モデルであるマウスコラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、関節炎発症を30 mg/kg以上で有意に抑制した。またYM-393059は、自己抗原に対する抗体の産生に対してはサイクロスポリンよりも強く抑制したことから、自己抗原に対する免疫応答を強く抑制する可能性が示唆された。さらに、YM-393059と既存薬の副作用における比較検討を行った。YM-393059はラット心移植拒絶モデルにおいて、サイクロスポリンとは異なり、拒絶反応を100 mg/kgにおいても抑制しなかったことから、アロ抗原への免疫応答に与える影響は軽微であると考えられる。すなわち、サイクロスポリンなどの免疫抑制薬を使用する場合に問題とされる外来抗原に対する免疫応答の低下を軽減できることが期待される。また、YM-393059は催吐作用の評価モデルであるマウス $\alpha_2$ -アドレナリン受容体アゴニスト誘発睡眠モデルにおいて、既存のPDE4阻害薬とは異なり、催吐作用を示さないことが示唆された。

本研究成績より、新規PDE阻害薬であるYM-393059はT細胞、マクロファージ、好中球といった広範囲の免疫・炎症性細胞の活性を抑制することより、広範な抗炎症作用を発揮することが期待される。YM-393059は自己抗原に対する反応を抑制する一方、免疫機能全般に与える影響は軽微であり、また、嘔吐誘発の懸念が低いことから、YM-393059は関節リウマチをはじめとする様々な自己免疫疾患あるいは炎症性疾患の治療薬として有望な化合物であることが示唆された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 沼 操  
副 査 教 授 伊 藤 茂 男  
副 査 教 授 木 村 和 弘  
副 査 助 教 授 大 橋 和 彦

学 位 論 文 題 名

## Pharmacological profile of a novel phosphodiesterase (PDE) 7A and PDE4 dual inhibitor, YM-393059.

(環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ阻害薬 (YM-393059)に  
関する薬理学的研究)

環状アデノシンモノフォスフェート (cAMP) は様々なホルモン、神経伝達物質あるいは炎症惹起物質の応答を介在する情報伝達物質であり、その細胞内濃度調節に関わる酵素群として環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ (PDE) が知られている。PDE は現時点では少なくとも 11 種類のアイソザイムが存在し、それぞれが特定の細胞内シグナル伝達に関与していると考えられている。PDE 7 は PDE 7A, 7B の 2 種類のアイソタイプを有し、特に 7A は胸腺、脾臓、リンパ節などの免疫組織あるいはリンパ球に特異的な発現が認められることから、新規抗炎症薬の標的分子候補として考えられる。そこで PDE 7A 阻害薬を創製する目的で、ハイスループットスクリーニングを実施し、新規 PDE 阻害薬である YM-393059 を見出した。本研究ではこの YM-393059 の性状を検討した。

YM-393059 は PDE 7A に対し強い阻害作用を有し、菌体毒素やマイトージェン刺激によるマウス脾細胞からのインターロイキン (IL) -2 産生、Th1 及び Th2 サイトカイン産生を共に抑制した。またリポポリサッカライドにより誘導されるマウス血清中の腫瘍壊死因子 (TNF) - $\alpha$  量も用量依存的に抑制した。また T 細胞由来サイトカイン産生抑制作用に併せて炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  産生も抑制することが明らかとなった。

YM-393059 の抗炎症薬としての薬理プロファイルを明らかにするために、種々の炎症モデルにおける作用を検討した。その結果 YM-393059 はマウス遅延型過敏反応を用量依存的に抑制し、マウスザイモザン腹膜炎モデルにおいては、好中球の活性化を抑制した。

これらの結果から YM-393059 は炎症、アレルギー性疾患あるいは自己免疫疾患の治療薬として有望と考えられたため、関節炎リウマチ治療薬の可能性を検討した。YM-393059 はマウスコラーゲン誘発関節炎モデルにおいて関節炎発症を 30

mg/kg 以上の投与量で有意に抑制した。加えてサイクロスポンなどの免疫抑制薬を使用する場合に問題とされる外来抗原に対する免疫応答の低下を軽減できることも明らかとなった。

本研究は、新規 PDE 阻害薬である YM-393059 が T 細胞、マクロファージ、好中球といった免疫・炎症性細胞の活性を抑制することにより、広範な抗炎症作用を発揮する事ならびに自己免疫疾患の治療薬としても有望であることを明らかにした。よって審査員一同は、上記学位論文提出者山本 哲氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。