Future prospective of phosphodiesterase-3 inhibitors as antithorombotic drug

Masakatsu NISHIKAWA^{*1}, Hiroyoshi HIDAKA^{*2}

Key words: cilostazol, K-134, anti-platelet drug, pleiotropic effect

PDE は、いくつかのアイソザイムが存在しており、心血管系における主な cAMP 分解酵素は、PDE-3 および PDE-4 である。PDE-3 は PDE-3A と 3B の 2 つのサブタイプが存在し、心血管系や血小板には PDE-3A が発現し、脂肪細胞や肝細胞では PDE-3B が発現している。表 1 に示したように cilostazol および K-134 は、PDE-3 に対して選択的阻害作用を有している。PDE3 は動脈ばかりでなく静脈にも存在することや特徴的な組織分布から、cilostazol や K-134 は cAMP 上昇作用を有する PG 系薬剤とは異なる薬理作用を有している。Cilostazol や K-134 は、PDE-3A を特異的に阻害し血小板内の cAMP を増加させ血小板機能を抑制するとともに、血管平

D. Western Therapeutics Institute [7th Floor, 18 KT Bldg., 1-18-11 Nishiki, Naka-ku, Nagoya, Aichi 460-0003, Japan]
Tel: 052-218-8785 Fax: 052-202-1866

表1 Inhibitory Effects of Cilostazol and K-134 on Various PDE Isozymes

	IC ₅₀ values on PDE Isozymes (μM)						
	PDE1	PDE2	PDE3A	PDE3B	PDE4	PDE5	PDE7
Cilostazol	>100	45	0.20	0.38	88	4.4	21
K-134	>300	>300	0.10	0.28	>300	12	120
Amrinone	>300	>300	17	31	>300	230	>300
Milrinone	260	>300	0.45	1	17	49	58
	Vinpocetine	Trequigin			Rolipram	Dipyridamole	IBMX
	23	1.5			0.39	26	7.7

Sudo T et al. Biochem. Pharmacol. 59 ; 347-356, 2000

Cilostazol

(6-[4-(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl) butoxy]-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone)

K-134(OPC-33509)

((-)-6-[3-[3-cyclopropyl-3-[(1R, 2R)-2-hydroxycyclohexyl] ureido]-propoxy]-2(1H)-quinolinone)

図1 Structure of Phosphodiesterase-3 Inhibitors

滑筋の cAMP も増加させ血管拡張作用や平滑筋増殖抑制作用を有する。cilostazol には、それ以外にも平滑筋増殖抑制作用、血管内皮細胞修復促進作用、血清脂質改善効果 (HDL-cholesterol ↑)、脳神経保護効果など、多くの薬理作用 (pleiotropic effect) を有することが報告されている³⁾ (表2)。cilostazol は PDE-3 の抑制作用に加えてアデノシンの細胞内の取り込みを阻害する作用を有しており、循環血液中に増加したアデノシンが cAMP による抗血小板作用や平滑筋弛緩作用を増強することが明らかにされた。

3. Cilostazol のエビデンス

Cilostazol は、aspirin や thienopyridine 系薬物 (clopidogrel など) などの抗血小板薬が、血小板に比較的特異的に作用するのに対して、

表2 Pleiotropic Effects of Cilostazol

- ・ Platelet inhibition and anti-thrombosis
- ・ Vasodilation
- ・ Inhibition of oxidative stress
- ・ Restoration from endothelial senescence
- ・ Reduction of adhesion molecule
- ・ Reduced leukocyte adhesiveness
- ・ Inhibition of vascular smooth muscle cell growth
- ・ Reduction of ischemia-reperfusion injury
- ・ Enhanced angiogenesis
- ・ Inhibition of adenosine uptake

cilostazol は血管内皮保護作用や血流改善作用を有しており、多血管病対策薬である。Cilostazol の EBM は、数多く報告されており^{3) 4)} (図3)、cilostazol の特徴としては、aspirin や thienopyridine と異なり出血時間を延長しないこと、また aspirin や thienopyridine と併用しても出血の助長作用がないことも利点である。主な副作用としては、頻脈、頭痛等の心臓陽性変力作用や血管拡張作用による症状である。Cilostazol の臨床応用は、1. 間欠性跛行に対する内科的治療薬 (保険適応)、2. 脳梗塞の再発予防 (保険適応)、であるが、その他への臨床応用としてはステント留置後の再狭窄予防⁵⁾ や clopidogrel 不応症対策のため cilostazol アドオン治療⁶⁾ である。

ACC/AHA や TASC II における末梢動脈疾患 (PAD) 治療ガイドラインでは、中等から重症の間欠性跛行があり運動療法の効果がない患者で、手術やインターベンション治療の適応がない場合

図2 Evidence-based medicine of cilostazol

には, cilostazol が推奨されている (Grade 1A). 日本で行われた脳梗塞患者 1095 名を対象としたプラセボ比較 RCT (CSPS-1) で脳梗塞 (特にラクナ梗塞) 再発予防に有用であり, 出血の副作用がプラセボ群と差がないことが示され, 脳梗塞再発予防の保険適応となった. 脳梗塞患者 740 名に対し cilostazol 群と aspirin 群の 2 群に分けた RCT (CASIS-P) が中国から報告された. 1

次エンドポイントである脳卒中再発率は cilostazol が aspirin より低い観察期間が短く有意差は得られなかった. 脳出血の発症は aspirin 群の方が有意に高かった. 日本でも脳梗塞患者を対象にした aspirin と cilostazol の RCT (CSPS-2) が 2010 年に報告されている^{7) 8)} (表 3). CSPS-2 は, 発症 26 週以内の非心原性脳梗塞患者 2757 例を対象として, cilostazol 100mg×2 回/日と aspirin 81mg×1 回/日の 2 群に分け, 1~5 年の追跡期間中の脳卒中再発を検討, cilostazol 群の脳卒中再発率は aspirin 群に比べ有意に低く (ハザード比 0.74, 95%CI : 0.56-0.98), 出血性イベントも cilostazol 投与群で低いことが示された (ハザード比 0.46, 95%CI : 0.30-0.71).

Bare metal stent を用いた PTCA 後の aspirin + clopidogrel 投与中の患者 705 名を対象に cilostazol の上乘せ効果 (再狭窄抑制効果) をみた RCT (CREST 試験) において, cilostazol 追加群の方が有意に再狭窄を予防した. またこれは糖尿病併存患者では特に有意であった. 最近では, 薬剤流出ステント (DES) を施行された糖尿病患者に

表3 Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2) : an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial

	Cilostazol (100mg×2/day)	Aspirin (81mg/day)	Hazard Ratio (95%CI)	RRR
Patients	1337	1335		
Primary endpoint (cerebral infarction, cerebral haemorrhage, or SAH)	82 (2.76)	119 (3.71)	0.743 (0.564-0.981)* p=0.0357**	25.7%
Haemorrhagic events (cerebral haemorrhage, SAH, or hospital admission)	23 (0.77)	57 (1.78)	0.458 (0.296-0.711) p=0.0004	54.2%
Adverse Event				
Headache	23.4%	16.3%	p<0.001	
Diarrhea	12.3%	6.4%	p<0.001	
Palpitation	11.7%	5.3%	p<0.001	
Dizziness	9.6%	7.3%	p=0.03	
Tachycardia	6.7%	1.6%	p<0.001	
Hypertension	9.0%	13.9%	p<0.001	
Constipation	8.2%	11.6%	p=0.003	

*Log-rank test, cilostazol is non-inferior to aspirin for the prevention of stroke (margin ≤ 1.33)

**the p value was lower than the adjusted significance level for superiority testing (p=0.0471)

表4 Inhibition by K-134 of PDE3A activity, and Agonist/Shear Stress-induced Aggregation of Human Platelets.

Drug	IC ₅₀ (μM)				
	PDE3A	ADP agg	Collagen agg	Thrombin agg	Shear Stress agg
Aspirin	—	>1000	312	>1000	>1000
Cilostazol	0.2	19	11	4.9	20
K-134	0.1	4.3	3.6	3.1	9

対する, aspirin+clopidogrel 投与中の患者 400 名に対し, cilostazol 追加する RCT (DECLARE-DIABETES 試験) において 6ヶ月後のステント内径 (閉塞) をみたところ, cilostazol 群の方が有意に狭窄を抑えたという報告がある.

虚血性心疾患の患者にインターベンション治療 (ステント留置術) が行われ, その際には aspirin+clopidogrel 併用抗血小板療法が標準療法として行われている. clopidogrel の抗血小板効果には, 個人差が大きく, 特に clopidogrel 服用にもかかわらず抗血小板効果が弱い (高血小板凝集能) 患者を clopidogrel 不応症 (あるいはレジスタンス) と呼ばれている. Clopidogrel 不応症の症例にはステント血栓症を含めた心血管イベント発症が多く, リスク因子の 1つと考えられるようになった. clopidogrel 不応症の原因の 1つに CYP2C19 の低代謝型遺伝子多型 (*2, *3) の関与が多く報告されるようになった⁹⁾. CYP2C19 の低代謝遺伝子多型がある場合は, CYP2C19 野生型 (*1/*1) に比して clopidogrel の *ex vivo* 血小板抑制作用が弱く, また, 心血管イベント抑制が悪いことも近年明らかにされている. clopidogrel の活性代謝産物は, 血小板 ADP 受容体 P2Y₁₂ に結合すると ADP による G_i を介した adenylyl cyclase の抑制を解除する結果 cAMP を増やし A-kinase を活性化し VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) 等の基質タンパクをリン酸化し血小板機能を抑制する. 一方, PDE-3 阻害剤 cilostazol も血小板内 cAMP を増やし A-kinase を活性化し VASP 等をリン酸化することから, clopidogrel と cilostazol は共通の作用点を有する. クロピドグレル不応症の解決の 1つに clopidogrel+aspirin と cilostazol の併用 (3 剤併用療法) が考えられる⁶⁾.

4. 新規 PDE-3 阻害薬 K-134

新規 PDE-3A 阻害薬 K-134 は, シロスタゾールの副作用の 1つである頻脈を少なくした cilostazol の改良型であり, 興和により治験が進められている.

K-134 は, cilostazol に比し 3~5 倍ヒト血小板凝集抑制作用が強い (表 4). また, 最近吉田らは, 高ずり応力下では PGE₁ 存在のもとコラーゲン表面での血小板血栓形成を aspirin より強く抑制するが, 低ずり応力下ではその作用は aspirin より遙かに弱いことを報告した¹⁰⁾. これは, 高流速下で生ずる動脈血栓は K-134 により抑制されるが, 低流速下で生ずる止血栓形成を K-134 は aspirin と異なりほとんど抑制しないこと, すなわち K-134 などの PDE-3 阻害剤が出血時間を延長しない理由を示唆した研究であり興味深い. cilostazol には認められない K-134 の新たな分子標的タンパクも Drug-Western 法を用いた研究により明らかにされている (図 3). K-134 は, アクチン結合タンパクである cofilin-2 や collagen 受容体の 1つである CD36 に結合することが示され¹¹⁾, これらの分子標的に対する作用は, K-134 の抗血小板作用や血管内膜肥厚抑制作用に関与するものと考えられる. また, K-134 は, ラット総頸動脈バルーン擦過モデルを用いた血管内膜肥厚モデル¹²⁾ において血管内膜肥厚抑制作用を有することが報告されている.

健常人を対象に行われた第 1 相治験では, K-134 は頭痛, 下痢などの有害事象が cilostazol より少ないこと, cilostazol 同様出血時間を延長しないことが示されている. 日米で, 間欠性跛行を対象に行われた第 2a 相治験が終了し, その結果が米

K-134 inhibited binding of CD36 to collagen type-I in a dose-dependent manner *in vitro*, different from cilostazol and amrinone.

K-134 bound to the cofilin(actin-binding protein) dose-dependently

BBRC 353;1111-1114,2007

図3 Additional antiplatelet effect of K-134

国循環器学会 AHA2011 で報告される予定である。

5. おわりに

Cilostazol および K-134 は共に我国で創成された血管病対策を兼ね備えた抗血栓薬である。K-134 については今後の治験の成果が待たれるところである。

Disclosure of Conflict of Interests

Nishikawa M indicates no potential conflict of interest. Hidaka H is the founder and Executive Director, CSO of D. Western Therapeutics Institute, Inc.

文 献

- 1) Koga Y, Kihara Y, Okada M, Inoue Y, Tochizawa S, Toga K, Tachibana K, Kimura Y, Nishi T, Hidaka H : 2(1H)-quinolinone derivatives as novel anti-arteriosclerotic agents showing anti-thrombotic and anti-hyperplastic activities. *Bioorg Med Chem-Lett* **8** : 1471-1476, 1998.
- 2) Sudo T, Tachibana K, Toga K, Tochizawa S, Inoue Y, Kimura Y, Hidaka H : Potent effects of novel anti-platelet aggregatory-cilostamide analogues on recombinant cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme activity. *Biochem Pharmacol* **59** : 347-356, 2000.
- 3) Liu Y, Shakur Y, Kambayashi J : Phosphodiesterases as targets for intermittent claudication. *HandbExpPharmacol* **204** : 211-236, 2011.
- 4) Shiva D, Constantinou K : Review of cilostazol, a phosphodiesterase

inhibitor, and its role in Preventing Both Coronary and Peripheral Arterial Restenosis Following Endovascular Therapy. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery* **4** : 6-14, 2009.

- 5) Jennings DL, James S, Kalus JS : Addition of cilostazol to aspirin and a thienopyridine for prevention of restenosis after coronary artery stenting : A meta-analysis. *J Clin Pharmacol* **50** : 415-421, 2010.
- 6) Angiolillo DJ, Ueno M : Optimizing platelet inhibition in clopidogrel poor metabolizers : Therapeutic options and practical considerations. *J Am Coll Cardiol Intv* **4** : 411-414, 2011.
- 7) Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, Yamaguchi T, Handa S, Matsuoka K, Ohashi Y, Tanahashi N, Yamamoto H, Genka C, Kitagawa Y, Kusuoka H, Nishimaru K, Tsushima M, Koretsune Y, Sawada T, Hamada C : CSPS 2 group : Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2) : an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial. *Lancet Neurol* **9** : 959-968, 2010.
- 8) Kamal AK, Naqvi I, Husain MR, Khealani BA : Cilostazol versus aspirin for secondary prevention of vascular events after stroke of arterial origin. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011, Issue 1. Art. No. : CD008076.
- 9) Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS : Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* **360** : 354-362, 2009.
- 10) Yoshida H, Okamura Y, Watanabe N, Ikeda Y, Handa M : Shear-dependent suppression of platelet thrombus formation by phosphodiesterase 3 inhibition requires low levels of concomitant Gs-coupled receptor stimulation. *Thromb Haemost* **105** : 487-495, 2011.
- 11) Ikenoya M, Doi T, Miura T, Sawanobori K, Nishio M, Hidaka H : Investigation of binding proteins for anti-platelet agent K-134 by Drug-Western method. *Biochem Biophys Res Commun* **353** : 1111-1114, 2007.
- 12) Inoue Y, Toga K, Sudo T, Tachibana K, Tochizawa S, Kimura Y, Yoshida Y, Hidaka H : Suppression of arterial intimal hyperplasia by cilostamide, a cyclic nucleotide phosphodiesterase 3 inhibitor, in a rat balloon double-injury model. *Br J Pharmacol* **130** : 231-241, 2000.