

PDE 的研究与创新药的开发

王 鹏

(先灵葆雅药物研究院, 美国新泽西州)

[关键词] 环核苷酸磷酸二酯酶; 创新药; 开发

[中图分类号] R95 [文献标识码] C [文章编号] 1003-3734(2006)04-0241-03

环核苷酸(cAMP 和 cGMP)是细胞内重要的第二信使,在各种细胞内调节许多生物活性,包括细胞成长、分化及移行、基因表达、介质分泌、平滑肌收缩、神经递质引起的各种生物反应、神经突触功能、脂质及糖质代谢等。环核苷酸磷酸二酯酶(PDE)是环核苷酸的惟一细胞内分解途径,因而 PDE 抑制剂通过阻碍环核苷酸的分解,从而调节一系列的生物功能。PDE 大家族共包括 11 个家族(PDE1~11),具有不同的 cAMP 和/或 cGMP 特异性^[1]。大多数 PDE 大家族成员包含多个的基因(亚型),而多数基因通过不同的 mRNA 剪接方式或者不同的转录起始位点能产生多种变异体。结构上,各 PDE 的催化部位(位于 C 末端)很相似,而 N 末端的各种调节部位结构则大不相同^[2]。PDE 的体内分布(在组织和细胞中的表达)各不相同^[1,2]。

1 许多 PDE 是针对各种不同疾病的创新药靶点

PDE5 即为抗勃起功能障碍药西地那非(sildenafil, Viagra)的靶点。最近西地那非在美国又被批准用于肺源性高血压。PDE5 在人体各组织器官中以肺和阴茎的表达水平最高,为心脏表达水平的 15 倍^[3]。PDE3 抑制剂西洛他唑(cilostazol, Pletal)在美国已被批准上市,用于间歇性跛行,其作用机制是动脉扩张和抗血小板。PDE4 抑制剂(用于多种疾病),PDE1 抑制剂(用于尿失禁)及 PDE2/5 抑制剂(用于癌症)的临床有效性已被证实。此外,PDE2 及 PDE9(用于痴呆),PDE3B(用于肥胖和糖尿病)及 PDE10(用于精神病)也被作为创新药的靶点。PDE1 抑制剂抗尿失禁的作用机制是扩张膀胱逼尿肌,在该组织中 PDE1 是主要的 PDE 同工酶;PDE1 抑制剂长春西丁(vinpocetine)在临床上对减少排尿频率有显著疗效^[4]。PDE2 和 PDE9 抑制剂在动物模型中能提高认知和记忆功能。PDE3B 主要表达于胰岛和脂肪细胞,其抑制剂在动物模型中有抗肥胖症和糖尿病的作用。cAMP 和 cGMP 能调控精神

活动,而 PDE10 则在有关中枢神经组织有特异性表达,PDE10 抑制剂在动物模型中有抗精神病的活性。在一些肿瘤细胞中,PDE2/5 双重抑制剂能有效地引起细胞凋亡,临床上对前列腺癌^[5]和肠腺瘤样息肉病^[6]有一定疗效。

2 临床应用

PDE4 抑制剂有可能对许多疾病有效,特别是慢性阻塞性肺病(COPD)和哮喘,有望成为首类对 COPD 有治本作用的药物。对哮喘则有望成为一类疗效与吸入型类固醇药相当但较为安全的口服药。其作用机制是由于这类药对这些疾病中的各种病变组织都有治疗作用,包括气道及血中白细胞(炎症),气道神经细胞(神经源性炎症),气道表皮细胞(黏液分泌),气道平滑肌(气道收缩),以及气道成纤维细胞(气道重组)。另外,最近在动物模型中发现的抗原诱导 PDE4 基因表达^[7],也为 PDE4 抑制剂对哮喘的临床有效性提供了又一个理论依据。目前开发相对成熟的 PDE4 抑制剂 cilomilast(Glaxo 公司)和 roflumilast(Altana 公司)在临床上对 COPD 和哮喘均有疗效,能显著提高肺功能和生活品质,并减少恶化事件。Roflumilast 的不良反应发生率较低,只有 2%~3%,包括恶心、腹痛、头痛、眩晕及体重下降等^[8]。

除了 COPD 和哮喘,PDE4 抑制剂还对数种自身免疫性疾病(银屑病和大肠炎)^[9,10],过敏性疾病(过敏性皮炎和过敏性鼻炎)^[11,12],以及抑郁症^[13]有一定疗效,用于关节炎、多重硬化症、阿尔茨海默病及恶性肿瘤的临床开发工作也在进行。此外,其用于卒中目前处于临床前开发阶段。PDE4 抑制剂对自身免疫性和过敏性疾病的疗效都源于其抗炎活性。对阿尔茨海默病的疗效具有双重机制:抗炎和提高记忆力。对抑郁症有效的机制在于 cAMP 对情绪活动的调控作用。对于恶性肿瘤,特别是对于慢性淋巴细胞性白血病细胞有抑制生长、引起凋亡的

良好效果^[14]。而对卒中,则是由于最近 PDE4D 基因被发现是一个中风基因^[15]。

目前,PDE4 已成为世界上最流行的创新药靶点之一。世界上几乎所有最大的 20 家制药公司以及许多小公司甚至大学和研究单位都在从事 PDE4 抑制剂的寻找、开发工作。目前世界上有 13 个 PDE4 抑制剂处于临床开发阶段,但均未被批准上市。

3 药物不良反应

PDE4 抑制剂在临床上主要的不良反应是恶心及呕吐,这限制了其临床剂量,从而限制了临床疗效。不过,最近一系列的基础研究结果已给开发新一代较少不良反应的 PDE4 抑制剂带来了希望。PDE4 家族共有 4 个亚型:A、B、C 和 D^[2,16]。已知的 PDE4 抑制剂对所有亚型都有抑制作用。近年关于各种亚型的体内分布及功能的研究表明,在各种亚型中 4B 的致炎作用最明显,其主要包括:① 4B (4B2)在主要致炎细胞中表达成主要 PDE 同工酶(如嗜中性粒细胞和单核细胞)^[17]或功能上与受体激活有关(T 细胞)^[18]。② 在人体各组织器官中 4B2 在白细胞的表达水平最高^[17]。③ 在单核细胞,仅 4B 的基因表达能被诱导^[19]。④ PDE4A/B 抑制剂,而非 4D 抑制剂,抑制单核细胞产生肿瘤坏死因子和 T 细胞增殖^[20]。⑤ 4B,而非 4D 或 4A,基因敲除阻断肿瘤坏死因子产生^[21]。另一方面,关于 PDE4 抑制剂的致呕吐作用,有中枢(与极后区和孤束核有关)和外周(通过胃肠道迷走神经的感觉神经元)神经机制。免疫组织化学研究表明,在这些神经组织表达的主要 PDE4 亚型是 4D,而不是其他亚型^[22]。用基因敲除小鼠的研究进一步表明,参与 PDE4 抑制剂致呕吐作用的 PDE4 亚型是 4D,而非 4B^[23]。所以,4B 特异性(特别是相对于 4D)的 PDE4 抑制剂有可能成为新一代更安全而有效的抗炎药。

总之,PDE 作为创新药靶点具有以下优点:

① PDE抑制剂的临床有效性和安全性已被证实。
② 除了上述已知的各种用途外,由于 cAMP 和 cGMP 在各种细胞都有重要的调节功能,PDE 抑制剂还有许多可能的用途有待进一步开拓。PDE1, PDE4 和 PDE5 抑制剂在动物模型上对其他疾病有疗效,PDE5 抑制剂由于已被批准上市,它们更进一步在临床上被广泛试验,而被发现对其它一些疾病有疗效。许多新的 PDE 如 PDE7A^[24],PDE7B^[25],PDE8B^[25,26],PDE9^[27]及 PDE11^[28]有独特的体内分

布,它们有可能分别成为某些疾病的创新药的特异性靶点。此外,PDE8A 最近被发现与另一热门创新药靶点 NF- κ B 有关连^[29],而 PDE9 则被发现是一精神病基因^[30]。③ 不同 PDE 的新药开发课题间有协同作用。④ 许多 PDE 的结晶结构已被发表^[31],有助于药物设计。⑤ PDE 较易被小分子化合物所抑制,因而较易找到高活性的各种结构的 PDE 抑制剂。实际上许多公司的 PDE 抑制剂是通过改造已知 PDE 抑制剂的结构,或通过研究已知抑制剂的构效关系而设计产生的。

【作者简介】王鹏(1959-),男,博士,资深研究员,主要从事生化药理学研究及新药研发工作。E-mail: peng.wang@spcorp.com。

【参考文献】

- [1] FRANCIS SH, TURKO IV, CORBIN JD. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: relating structure and function[J]. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2001, 65:1-52.
- [2] CONTI M, JIN SLC. The molecular biology of cyclic nucleotide phosphodiesterases[J]. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1999, 63:1-38.
- [3] CORBIN JD, BEASLEY A, BLOUNT MA, et al. High lung PDE5: A strong basis for treating pulmonary hypertension with PDE5 inhibitors[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(3):930-938.
- [4] TRUSS MC, STIEF CG, UCKERT S, et al. Initial clinical experience with the selective phosphodiesterase-I isoenzyme inhibitor vinpocetine in the treatment of urge incontinence and low compliance bladder[J]. *World J Urol*, 2000, 18(6):439-443.
- [5] GOLUBOFF E, PRAGER D, RUKSTALIS D, et al. Long-term use of exisulind in men with prostate cancer following radical prostatectomy[J]. *J Urol*, 2002, 167(Suppl): Abs 706.
- [6] BURKE C, ARBER N, PHILLIPS RK, et al. Exisulind continues to prevent colonic adenoma formation in familial adenomatous polyposis (FAP) patients treated for 18 months[J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(4 Suppl 2): Abs 3605.
- [7] TANG HF, SONG YH, CHEN JC, et al. Upregulation of phosphodiesterase-4 in the lung of allergic rats[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171(8):823-828.
- [8] GIEMBYCZ MA. Development status of second generation PDE4 inhibitors for asthma and COPD: the story so far[J]. *Monaldi Arch Chest Dis*, 2002, 57(1):48-64.
- [9] STAWISKI MA, RUSIN LJ, BURNS TL, et al. Ro20-1724, an agent that significantly improves psoriatic lesions in double blind clinical trials[J]. *J Invest Dermatol*, 1979, 73(4):261-263.
- [10] HANAUER SB, MINER PB, KESHAVARZIAN A, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel arm, safety and efficacy trial of once-daily, oral OPC-6535 in the treatment of active ulcerative colitis (UC)[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126

- (4 Suppl 2): Abs 814.
- [11] HANIFIN JM, CHAN SC, CHENG JB, *et al.* Type 4 phosphodiesterase inhibitors have clinical and in vitro anti-inflammatory effects in atopic dermatitis [J]. *J Invest Dermatol*, 1996, 107(1):51-56.
- [12] SCHMIDT BM, KUSMA M, FEURING M, *et al.* The phosphodiesterase 4 inhibitor roflumilast is effective in the treatment of allergic rhinitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(4):530-536.
- [13] RENAULT TE. The potential of phosphodiesterase 4 inhibitors for the treatment of depression: opportunities and challenges [J]. *Curr Opin Invest Drugs*, 2004, 5(1):34-39.
- [14] KIM DH, LERNER A. Type 4 cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase as a therapeutic target in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Blood*, 1998, 92(7):2484-2494.
- [15] GULCHER JR, GRETARSDOTTIR S, HELGADOTTIR A, *et al.* Genes contributing to risk for common forms of stroke [J]. *Trends Mol Med*, 2005, 11(5):217-224.
- [16] WANG P, MYERS JG, WU P, *et al.* Expression, purification and characterization of human cAMP-specific phosphodiesterase (PDE4) subtypes A, B, C and D [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 234(2):320-324.
- [17] WANG P, WU P, OHLETH KM, *et al.* Phosphodiesterase 4B2 is the predominant phosphodiesterase species and undergoes differential regulation of gene expression in human monocytes and neutrophils [J]. *Mol Pharmacol*, 1999, 56(1):170-174.
- [18] BAROJA ML, GIESLINSKI LB, TORPHY TJ, *et al.* Specific CD3 epsilon association of a phosphodiesterase 4B isoform determines its selective tyrosine phosphorylation after CD3 ligation [J]. *J Immunol*, 1999, 162(4):2016-2023.
- [19] MA D, WU P, EGAN RW, *et al.* Phosphodiesterase 4B gene transcription is activated by lipopolysaccharide and inhibited by interleukin-10 in human monocytes [J]. *Mol Pharmacol*, 1999, 55(1):50-57.
- [20] MANNING CD, BURMAN M, CHRISTENSEN SB, *et al.* Suppression of human inflammatory cell function by subtype-selective PDE4 inhibitors correlates with inhibition of PDE4A and PDE4B [J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 128(7):1393-1398.
- [21] JIN SL, LAN L, ZOU DILOVA M, *et al.* Specific role of phosphodiesterase 4B in lipopolysaccharide-induced signaling in mouse macrophages [J]. *J Immunol*, 2005, 175(3):1523-1531.
- [22] LAMONTAGNE S, MEADOWS E, LUK P, *et al.* Localization of phosphodiesterase-4 isoforms in the medulla and nodose ganglion of the squirrel monkey [J]. *Brain Res*, 2001, 920(1/2):84-96.
- [23] ROBICHAUD A, STAMATIOU PB, JIN SLC, *et al.* Deletion of phosphodiesterase 4D in mice shortens alpha(2)-adrenoceptor-mediated anesthesia, a behavioral correlate of emesis [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(7):1045-1052.
- [24] WANG P, WU P, EGAN RW, *et al.* Cloning, characterization, and tissue distribution of mouse phosphodiesterase 7A1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276(3):1271-1277.
- [25] PEREZ-TORRES S, CORTES R, TOLNAY M, *et al.* Alterations on phosphodiesterase type 7 and 8 isozyme mRNA expression in Alzheimer's disease brains examined by in situ hybridization [J]. *Exp Neurol*, 2003, 182(2):322-334.
- [26] HAYASHI M, MATSUSHIMA K, OHASHI H, *et al.* Molecular cloning and characterization of human PDE8B, a novel thyroid-specific isozyme of 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 250(3):751-756.
- [27] WANG P, WU P, EGAN RW, *et al.* Identification and characterization of a new human type 9 cGMP-specific phosphodiesterase splice variant (PDE9A5). Differential tissue distribution and subcellular localization of PDE9A variants [J]. *Gene*, 2003, 314:15-27.
- [28] LOUGHNEY K, TAYLOR J, FLORIO VA. 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase 11A. localization in human tissues [J]. *Int J Impot Res*, 2005, 17(4):320-325.
- [29] WU P, WANG P. Per-Arnt-Sim domain-dependent association of cAMP-phosphodiesterase 8A1 with Ikaros proteins [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(51):17634-17639.
- [30] GUIPPONI M, SCOTT HS, KUDOH J, *et al.* Identification and characterization of a novel cyclic nucleotide phosphodiesterase gene (PDE9A) that maps to 21q22.3; alternative splicing of mRNA transcripts, genomic structure and sequence [J]. *Hum Genet*, 1998, 103(4):386-392.
- [31] CARD GL, ENGLAND BP, SUZUKI Y, *et al.* Structural basis for the activity of drugs that inhibit phosphodiesterases [J]. *Structure (Camb)*, 2004, 12(12):2233-2247.

编辑:王宇梅/接受日期:2005-09-06

临床栏目征稿启事

为提高我国新药临床研究水平,指导上市后新药的合理用药,本刊2006年改为半月刊后,将加大相关文
章的报道力度。征稿内容:各期新药临床研究(论著),药物不良反应(病例报告),上市后新药再评价(回顾
性研究)。基金项目稿件将优先发表。欢迎临床药理基地医务工作者及广大临床医师踊跃投稿。