

血小板 phosphodiesterase 阻害剤 DN9693 の抗血小板作用，とくに dilazep に対する相乗作用について

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究 小児慢性腎炎の薬物療法に関する研究

大 熊 稔*

要約：血小板の low Km, cyclic AMP phosphodiesterase の阻害剤である DN9693 は, in vitro において各種刺激による血小板機能を阻害した。インピーダンス法での全血中の血小板凝集では, DN9693 は adenosine 存在下に cyclic AMP を介して dilazep の抗血小板効果を著明に増強した。したがって本薬剤は dilazep との併用投与により慢性糸球体腎炎などでも dilazep 単独に比し治療効果を向上させることが期待される。

DN9693, dilazep, 抗血小板作用

1. 序 言

われわれはこれまでに、慢性腎炎患者における尿蛋白減少効果や creatinine clearance 増強効果を有する dilazep (DZP)¹⁾ の作用機序を明らかにする目的で、本剤の血小板凝集や細胞質内 Ca^{2+} 濃度およびアラキドン酸(AA)代謝に及ぼす作用を中心に検討した^{2), 3)}。最近、DZP の adenosine transport 阻害作用により cyclic AMP (cAMP) を介する抗血小板効果が報告される⁴⁾ とともに新しい血小板の low Km, cAMP phosphodiesterase (PDE) 阻害剤 DN9693 (DN) が開発された⁵⁾ ので DN のヒト血小板機能に対する阻害効果を検討するとともに、全血中において adenosine の存在下に DN と DZP を併用すると後者の抗血小板作用が著明に亢進されることが明らかとなり、両薬剤併用の有用性を示唆する成績を得たので報告する。

2. 研究方法

採血前、2 週間以上薬剤使用歴のない健康成人から採血・分離した多血小板血漿 (PRP) と乏血小板血漿 (PPP) を用い、既報²⁾ に準じて血小板凝集 (PRP 凝集) および lumiaggregometer による ATP 放出を指標とした放出反応

を検討した。DN (第一製薬) は生食水に溶解し、PRP と通常 37°C 1.5 分間反応させた後各種刺激による血小板機能への影響を観察した。血小板の全血中での凝集 (全血凝集) は、前記の如く採取した血液につき既報⁶⁾ に準じて collagen (Horm) 2 μ g/ml 添加後 5 分におけるインピーダンスの変化を指標として検討した。血小板細胞質中の遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の測定は quin 2 を用いて既報²⁾ に準じて測定した。

3. 結 果

a) PRP 凝集に及ぼす DN の効果。予め各種濃度の DN と反応させた PRP に 3 μ MADP, 5 μ M epinephrine, 2 μ g/ml collagen 又は 2 μ M PAF を加えて誘発される血小板凝集は二次凝集のみならず一次凝集も DN の濃度依存性に阻害され、その IC₅₀ は何れの刺激の場合も約 1 μ M であった (図 1)。DN の添加で AA および A 23187 による凝集にも同様な阻害効果が認められたのみならず、ADP や collagen による凝集の開始後に DN (10 μ M) を加えると凝集解離が認められた (図略)。0.2 μ M DN と 20nM prostaglandin E₁ (PGE₁) はそれぞれ単独では collagen 凝集を阻害し得なかったが、両者を共に加えると著明な阻害効果が

* 京都大学医学部内科学 I

Minoru Okuma

Kyoto Univ. School of Medicine, Internal Medicine I

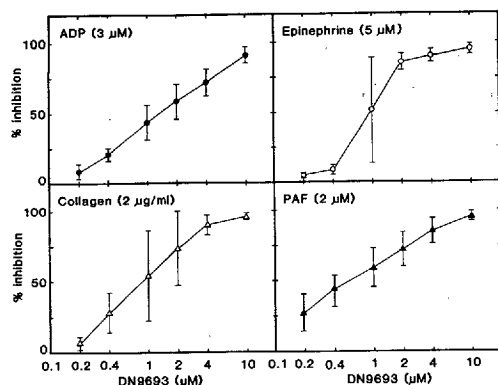
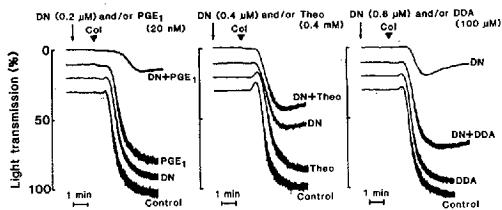


図1. DNの血小板凝集（PRP凝集）阻害作用
M±SD, n=4~5

認められた（図2）。しかしPDE阻害剤である theophyllineにはDNの効果に対するこの様な相乗作用を認めず, adenylate cyclaseの阻害剤である 2',5'-dideoxyadenosine (DDA, 100 μM) と1分間反応させたPRPにDNを作用させた後collagen凝集を観察すると, DDAはDNの抗血小板効果を抑制した（図2）。

b) thrombinによる $[Ca^{2+}]_i$ 上昇に対するDNの効果。4 μM DNおよび400 μM theophyllineは, 10 nM PGE₁のthrombinによる $[Ca^{2+}]_i$ 上昇阻害作用を著明に増強したが, 上記濃度のDNとtheophyllineの併用による阻害作用の増強効果は軽度であった（図3）。

c) 全血凝集に対するDZP, DNおよびadenosineの効果とDDAによるその抑制。37℃で全血に, 1 μM DZP, 1 μM DNまたは2 μM adenosineを単独で加えるか, 1分間隔でこれらの内の何れかの二者を加えてから1分間反応させてもcollagenによる全血凝集に対する影響を認めなかった（図4, A）が, 上記の濃度の三者を共に作用させると著明な阻害効果が認められた（図4, B）。しかし, 200 μM DDAと37℃, 1分間反応させた全血では, 上記三者による全血凝集に対する阻害作用が抑制された（図4, C）。



DN, DN9693; Theo, theophylline; DDA, 2',5'-dideoxyadenosine; Col, collagen (2 μg/ml)

図2. DNのcollagen凝集阻害作用に対するPGE₁, theophyllineおよびDDAの効果

4. 考察

DNは血小板膜のlow Km, PDEを強く阻害することや抗血小板作用を有することが報告されている⁵⁾が, ヒト血小板を用いた今回の検討でもDNは各種の刺激による血小板機能（凝集, 放出反応）を阻害することが明らかとなった。cAMPは各種の刺激による血小板機能を阻害し, とくに凝集に対してはこれを解離させることも明らかにされており, 血小板機能を発現させるCa²⁺とは逆にこれを抑制的に調節するsecond messengerと考えられている⁷⁾。collagenによるPRP凝集やthrombinによる $[Ca^{2+}]_i$ 上昇に対するDNの阻害作用は何れもPGE₁ (adenylate cyclaseを活性化してcAMP産生を亢進させる)との併用で著明に増強され, またcollagen凝集に対するDNの阻害効果がadenylate cyclaseの阻害剤であるDDAにより抑制された（図2, 3）ことからDNの抗血小板作用にはPDE阻害による血小板のcAMPレベル上昇の関与が推察される。

adenosineは血小板のadenylate cyclaseを刺激する⁷⁾がヒトでは速やかに細胞内に取り込まれて代謝されその血中濃度は低い(0.29±0.08 μM)⁸⁾。しかし, adenosine transport inhibitorであるdiazepam⁹⁾やcAMP PDE阻害剤の存在下では血小板のcAMP濃度の上昇による血小板機能の抑制が推察され, DZPの様な効果がRA 233 (cAMP PDE阻害剤)

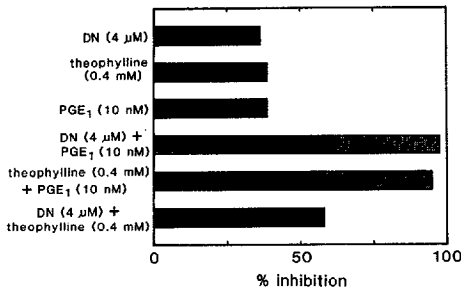
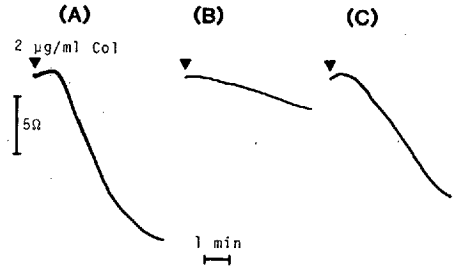


図3. thrombinによる血小板の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇に対するDNおよびtheophyllineの阻害作用とPGE₁の相乗効果。

について報告されている⁴⁾。今回われわれは、全血凝集計を用いて、adenosineおよびDNの存在下に低濃度のDZPが血小板凝集を阻害するが、その作用がadenylate cyclase 阻害剤であるDDAにより抑制されることを示し得た(図4)。したがってDZP投与によるその生体内での抗血小板作用やこれを介する腎機能改善効果は、adenosineやcAMPの代謝および作用を介してDNとの併用により増強されることが期待される。

5. 文献

- 1) 東條静夫, 本田西男, 柴田昌雄, 成田光陽, 宮原 正, 酒井 紀, 加藤暎一, 木田 寛, 折田義正, 石川兵衛, 原 耕作, 田中恒男, 高橋 浩: 慢性糸球体腎炎に対するAS-05 (Dilazep)の臨床評価—全国多施設協同二重盲検試験。腎と透析, 20:289-313, 1986.
- 2) 大熊 稔, 牛首文隆, 金地研二, 千先茂樹: 血小板の機能と抗血小板剤によるその阻害。厚生省心身障害研究: 小児慢性腎炎の予防・管理・治療に関する研究。昭和60年度研究業績報告書。p. 19-22, 1986.
- 3) 大熊 稔, 金地研二: Dilazepの血小板と好中球の機能ならびに代謝に対する阻害作用について。同上。昭和61年度研究業績



(A) Control: 1 μ M DZP, 1 μ M DN, 2 μ M Adeno or 2 of them, (B) 1 μ M DZP + 1 μ M DN + 2 μ M Adenosine, (C) 200 μ M DDA + same as (B)

図4. DNおよびadenosine存在下でのcollagenによる全血凝集に対するDZPの阻害作用(B)とDDAによるその抑制(C)。

報告書。p. 18-21, 1987.

- 4) Dawicki, D.D., Agarwal, K.C. and Parks, R.E., Jr.: Potentiation of the antiplatelet action of adenosine in whole blood by dipyridamole or dilazep and the cAMP phosphodiesterase inhibitor, RA233. *Thromb. Res.*, 43:161-175, 1986.
- 5) Sakuma, K. and Ashida, S.: Antiplatelet effect of DN9693, a new water soluble compound: A cyclic AMP dependent phenomenon. *Thromb. Haemost.*, 54:134, 1985.
- 6) Sensaki, S., Okuma, M. and Uchino, H.: Decreased plasma prostacyclin-regenerating activities in diabetics. *Prostaglandins Leukotrienes Med.*, 20:197-207, 1985.
- 7) Feinstein, M.B., Rodan, G.A. and Cutler, L.S.: Cyclic AMP and calcium in platelet function, in *Platelets in Biology and Pathology 2*, edited by Gordon, J.I., Elsevier

✓
/North-Holland, Amsterdam

pp. 437 - 472, 1981.

- 8) Sato, T. and Ui, M.: A sensitive radioimmunoassay for adenosine, in *Physiology and Pharmacology of Adenosine*, edited by Daly, J. W., Kuroda, Y., Phillis, J. W., Shimizu, H. and Ui, M., Raven Press, New York pp. 1 - 11, 1983.
- 9) Pohl, V.J. and Brock, N.: Vergleichende Untersuchungen zur Hemmung des Adenosinabbaus in vitro durch Dilazep. *Arzneim. Forsch.* 24:1901 - 1905, 1974.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:血小板の low Km , cyclicAMP phosphodiesterase の阻害剤である DN9693 は, in vitro において各種刺激による血小板機能を阻害した。インピーダンス法での全血中の血小板凝集では, DN9693 は adenosine 存在下に cyclic AMP を介して dilazep の抗血小板効果を著明に増強した。したがって本薬剤は dilazep との併用投与により慢性糸球体腎炎などでも dilazep 単独に比し治療効果を向上させることが期待される。