

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00491

研究課題名（和文）リアルワールドデータの解析に基づく副作用機序の解明と疾患治療標的の発見

研究課題名（英文）Drug target finding based on the analysis of real world data

研究代表者

金子 周司（Kaneko, Shuji）

京都大学・医学研究科・研究員

研究者番号：60177516

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,700,000円

研究成果の概要（和文）：臨床データ解析から有害事象を低減する併用薬を発見する手法を用いて、有害事象と類似症状を呈する自然発症疾患の新しい治療標的への応用を探った。対象として オランザピンによる脂質異常症、アミオダロンによる間質性肺炎、プラミペキソールによる強迫性障害OCDをとりあげ、についてはビタミンD併用の有用性と標的として骨格筋INSIG2を見いだした。についてはダビガトランに肺線維化抑制作用を発見し、血小板由来増殖因子 受容体を介する治療パスウェイを見いだした。についてはプロトンポンプ阻害薬の有用性を発見し、ATP4A阻害による外側眼窩前頭皮質神経細胞内のpH低下によるOCD抑制機序を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では国内外で公開されている大規模診療記録や有害事象に関連するビッグデータに着目し、統計学的手法を用いてそれらを解析・有効活用するとともに実証実験を行い、有害事象と類似した自然発症疾患の分子機序の解明や治療薬の開発を目指した。従来にはない研究戦略と実証的薬理学を組み合わせた計画が綿密に構築されており、有害事象を軽減する戦略や新規治療薬の創出に繋がると期待できる。また新しい創薬の方法論を創成できる可能性も高い。

研究成果の概要（英文）：Using a method to discover drug combinations that reduce adverse events from clinical data analysis, we explored its application to new therapeutic targets for naturally occurring diseases that exhibit symptoms similar to those of adverse events. We targeted (1) dyslipidemia caused by olanzapine, (2) interstitial pneumonia caused by amiodarone, and (3) obsessive-compulsive disorder OCD caused by pramipexole. For (1), we discovered the usefulness of combined use of vitamin D and found skeletal muscle INSIG2 as a target. Regarding (2), we discovered that dabigatran has an anti-pulmonary fibrosis effect and found a therapeutic pathway mediated by the platelet-derived growth factor receptor. Regarding (3), we discovered the usefulness of proton pump inhibitors and clarified the mechanism of suppressing OCD by lowering the pH within neurons of the lateral orbitofrontal cortex by inhibiting ATP4A.

研究分野：医療情報学、薬理学

キーワード：リアルワールドデータ レセプト ビッグデータ 電子カルテ 薬理学 創薬 臨床検査値 臨床予測性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

製薬研究員と話をするたびに「創薬標的が枯渇している」と聞く。近年、ヒト病態に關与する遺伝子の特定から、当該遺伝子の欠失による機能評価や遺伝子産物に結合するリガンドの探索によって治療標的が次々とスクリーニングされ、そうしたゲノム創薬が抗体医薬の急増に見られるような医薬品の多様化を実現できた当然の成り行きである、と私は思っている。しかし現実には、低分子化合物を設計する従来型の創薬は困難に直面している。この状態を打開するために生み出されたアイデアの1つがドラッグリポジショニング (DR) である。

承認薬の有効成分は今や 3000 種類以上も存在するが、前臨床であらゆる薬理活性を確認しているわけではないので、DR とは見逃されている有効性を発掘しようという試みと言える。DR は様々な手法に基づき、ヒト病態 iPS 細胞を用いて既存薬の *in vitro* スクリーニングが行われたり、遺伝子発現において病態と薬物処置で反対方向に動くケースを元にして当該薬物の治療有効性を類推する、等が試されている。確かに DR は低コストで安全性は担保できるが、有効性の確認を行う臨床試験が当然必要となり、既存薬の適応拡大ではメーカーも腰が重い。さらに臨床試験ではしばしば有効性が立証されない (Nat Rev Drug Discov 18:41, 2019)。

私のアイデアはもっと臨床予測性の高い DR 創薬手法はないものだろうかという「問い」に端を発している。人間での薬物の有効性を予測するためには、やはり実臨床データを用いるべきだろう。薬学者に前向きな臨床試験はできない、でも後向き解析ならできる。そこへ 2018 年の次世代医療基盤法によって、ようやく我が国でも医療情報の研究活用に門戸が開かれた。臨床統計学や薬剤疫学で得た仮説を元にして、動物・細胞・分子レベルの基礎科学を展開するリバーズ・トランスレーショナルリサーチが今やっと可能になったのである。

2. 研究の目的

様々な医薬品は好ましくない副作用 (有害事象) を引き起こす。有害事象を治験段階で網羅的に捕捉することは難しく、市販後調査によってモニターされ規制当局に報告される。米国 FDA は国内外で発生した有害事象セルフレポートをデータベース化し、現在、1000 万件もの有害事象発症例が世界中から誰もがみられる形で公開されている。これが FAERS (FDA Adverse Event Reporting System) である。

有害な副作用のメカニズムの多くは、今なお不明のままである。一方、副作用で見られる症状や病理は自然発症する疾患と一部で共通性を有することから、薬理学者はしばしば動物で病態モデルを作成するために副作用を利用してきた。つまり FAERS は視点を変えると人間における貴重な病態誘発モデルと見なすことができる。しかも FAERS 症例の約半数で多剤併用が行われているため、未知の薬物間相互作用が含まれる可能性が高い。

我々はこのような着想に基づいて、FAERS から特定薬物の有害事象を軽減する併用薬を統計学的に見出し、その作用を動物や細胞で実証する研究を世界に先駆けて発表した (Sci Rep 6:26375, 2016)。この研究は副作用を予防・軽減するドラッグリポジショニングを可能にただだけでなく、副作用に関わる生体分子の発見を 2 薬物の相互作用点として同定できることで容易にした。

もちろん副作用はあくまで薬物によって誘発される人為的現象であり、自然発症疾患とは原因が異なる。しかしながら副作用と疾患の表現型や病理が類似しているならば、こうして見出された副作用の発生メカニズムはある種の疾患における新しい治療標的となる可能性が高い。ま

た新規標的の発見によって新規化合物の設計と創薬が可能になる。これを実現したいのが本研究の目的である。

3. 研究の方法

まず、FAERS 解析によって検出される自然発症あるいは有害事象の発生率に影響する併用薬を統計学的な交絡因子として発掘して仮説とした。ここで臨床エビデンスを強化し、有害事象の低減に有効な併用薬が自然発症疾患の治療薬として応用できるか、という因果関係を確かめるため、レセプトや電子カルテデータによる時系列解析を行った。

我々は国内の組合健保 14 年間、555 万人の保険診療記録(傷病名、処方、人間ドック健診値)を株式会社 JMDC より購入して有しており、本研究では年次更新によって毎年約 100 万人ずつ増やしなが、3 年間にわたって薬剤誘発性と自然発症による疾患および健診値の異常を時系列でモニターした。また、研究分担者である浅井が構築してきた日本大学病院電子カルテデータ(200 万人)を用いて、同様に薬剤誘発性と自然発症による傷病名の出現と臨床検査値の異常に対する処方薬の影響を時系列で解析した。こうした複数の RWD へ傾向スコアマッチングなどの臨床統計学的手法を適用することによって、ランダム化比較対照試験に比べて多数の例数が確保できバイアス因子の少ない解析を可能になった。

次に、仮説を検証するため動物あるいは細胞を用いた実験系に落とし込み、病態モデルの作成と薬物応答性の変動を検証した。作用メカニズムについては各テーマに応じて遺伝子発現変動、DNA メチル化、タンパク質リン酸化など分子レベルでの解析を行った。自然発症疾患については様々な DNA アレイあるいは RNA シーケンシングデータが公的データベースで公開されており、それらとの比較を行うことによって検証を試みた。最終的には標的分子に作用する新たな母骨格化合物の設計にまで進め、有害事象と自然発症に共通する創薬標的の創出を目標とした(上図)。なお、この化合物の設計については、研究分担者の永安が独自の深層学習技術を応用した。

以下、研究対象とする 3 テーマについて、具体的な方法を記述する。

テーマ 1：オランザピンによる脂質異常症

非定型統合失調症治療薬であるクロザピン、クエチアピン、オランザピンの 3 剤は、化学構造や治療メカニズムは類似しているが、副作用の面からはそれぞれ特徴がある。クロザピンは無顆粒血症を起こすことで他 2 者と大きく異なる。我々の RWD 解析からクエチアピンは高血糖・糖尿病といった糖代謝障害を起こしやすく、オランザピンは高コレステロール血症や高トリグリセリド血症などの脂質異常症を起こしやすいことが明らかになっていた。そこで本研究では肥満関連のオランザピンによる脂質異常症に注目した。

まず FAERS 解析からオランザピンによる脂質異常症オッズ比を大きく低減させる併用薬 A を探索した。続いてレセプトおよび電子カルテを用いて、オランザピン処方例における脂質関連検査値、腹囲、体重や BMI など肥満や脂質代謝に関連した数値と傷病名を用いて、オランザピンと併用薬 A の単独投与例および併用例について時系列解析で仮説の検証を行った。動物実験においてはマウスにオランザピンと併用薬 A の単独あるいは併用で投与を行い、短期および長期での効果を血液検査値と体重のモニタによって検証し、臨床再現性を確認した。その後、投与動物の臓器を回収し、組織像、脂質およびタンパク質の解析、遺伝子発現変動を検討し、ヒト自然発症や病態モデル動物による変動と比較検討することによってオランザピンと併用薬 A の相互作用点となる生体分子 X を同定した。

テーマ2：アミオダロンによる間質性肺炎・肺線維症

日本人の死因上位に肺炎が上がってきたように、高齢化社会において呼吸器疾患は生命予後が大きく左右する要素になりつつある。特に慢性炎症から線維化に至る肺の器質的障害に対する治療薬にはピルフェニドンとニンテダニブの2剤が挙げられるのみであり、発症や治療メカニズムには不明な点が多い。

我々はFAERS解析において抗不整脈薬アミオダロンが高いオッズ比で間質性肺疾患を引き起こすことに着目し、本研究ではFAERSからアミオダロンによる間質性肺疾患のオッズ比を大きく低減する併用薬Bを探索した。次にレセプトおよび電子カルテを用いて傷病名と検査データ中の間質性肺疾患に関連する事象に着目し、アミオダロンと薬物Bの単独処方あるいは併用例について仮説の検証を行った。続いてマウスにアミオダロンと薬物Bの単独あるいは併用での長期投与を行い、呼吸・代謝機能を反映する体重の推移をモニタするとともに必要な時点で動物の肺組織および免疫・炎症細胞を回収し、線維化像の検証や細胞ごとに網羅的な遺伝子発現変動を調べる。ヒト罹患組織の公開データやプレオマシンによる肺線維化モデルと比較検討することにより、アミオダロンと薬物Bの作用点および作用機序について検討した。

テーマ3：プラミペキソールによる強迫性障害

強迫性障害(OCD)という疾患は薬学者にはあまり耳馴染みがない。それは有効な治療薬が存在しないからである(高用量SSRIが用いられるが有効率は半数しかも超遅効性である)。かつては不安障害の一種と考えられてきたが、DSM-5では反復行動を特徴とする新規の疾患として細分類され、米国での生涯罹患率は1-3%ときわめて高いことが明らかになっている。強迫観念に基づく強迫行為の反復が表現型であり「ゴミ屋敷」問題にあるような「ためこみ症」もOCDの一類型である。この新しい精神疾患に対して、病態モデルの作成が数々試みられてきた。遺伝子欠損動物モデルもあるが不安の関与が排除できず、最もコンセンサスを得ているのがドパミンD₂/D₃刺激薬であるキンピロールのラットないしマウス連続投与モデルである。我々は研究分担者の浅岡と永安と共同で本モデルで見られる過剰反復行動と逆転学習障害の神経回路メカニズムについてH28-30の科研費基盤研究(B)で解析を行い、アデノシンA_{2A}受容体遮断薬であるイストラデフィリンの有効性を報告している(Asaoka et al. eNeuro 2019)。

本研究ではこの研究を基にRWD解析で新規治療薬の開発に展開した。ドパミンD₂/D₃/D₄刺激薬プラミペキソールはパーキンソン病治療薬として承認を得ているが、非常に特徴的な副作用としてOCD様の強迫行為を来す。薬物の薬理プロファイルの類似性から考えて、キンピロール病態動物モデルとプラミペキソール服用者では同じ神経メカニズムによってOCD様行動が起こると考えることができる。そこで我々はFAERS解析からOCD発症率を低減させる併用薬Cを探索し、その作用メカニズムの解析からOCD治療標的の発掘を試みた(右図)。さらにレセプトおよび電子カルテを用いて傷病名からOCDに関連する事象に着目し、ドパミン刺激薬と薬物Cの単独処方あるいは併用例について時系列解析を行うことで仮説の検証を行った。続いてマウスにドパミン刺激薬を連続投与してOCD様の過剰反復行動と逆転学習障害モデルを作成し、薬物Cの有効性を全身投与や脳内局所投与などを行って再現性を検証した。最後に習慣性行動の制御に関与すると想定されている前頭前野および線条体の神経核に対して光遺伝学的ツールあるいは化学遺伝学的ツールをウイルスベクターで導入することによって、特定の神経サブセットを任意のタイミングで興奮あるいは抑制させ、薬物Cの作用メカニズムと治療標的となる生体分子Zを明らかにしようとした。

4. 研究成果

テーマ1：オランザピンによる脂質異常症

まず FAERS 解析からオランザピンによる脂質異常症オッズ比を大きく低減させる併用薬 A としてビタミン D を見いだした。次に JMDC レセプトおよび日大病院電子カルテおよび検査値を用いて、オランザピン処方例における脂質関連検査値、腹囲、体重や BMI など肥満や脂質代謝に関連した数値と傷病名を用いて、オランザピンとビタミン D の単独投与例および併用例について時系列解析での検証を行い、臨床においても実際にビタミン D が脂質改善作用を有することを確認した。次にマウスにオランザピンとビタミン D の単独あるいは併用で投与を行い、短期および長期での効果を血液検査値と体重のモニタによって検証し、臨床再現性を確認した。さらに投与動物の臓器を回収し、組織像、脂質およびタンパク質の解析、遺伝子発現変動を検討し、ヒト自然発症や病態モデル動物による変動と比較検討することによってオランザピンとビタミン D の相互作用点となる骨格筋 INSIG2 の発現変動を同定した。

テーマ2：アミオダロンによる間質性肺炎・肺線維症

我々はFAERS解析において抗不整脈薬アミオダロンが高いオッズ比で間質性肺疾患を引き起こすことに着目し、これを強く抑制する併用薬として抗トロンピン薬ダビガトランを見出した。さらに国内JMDCレセプトの解析からアミオダロン処方例の20-30%において間質性肺疾患が、さらにその10人に1人が肺線維症に移行することを見出した。実際、マウスにアミオダロンを連続投与することによって肺間質に炎症が誘発され、それが遷延化することでコラーゲンの蓄積を特徴とする線維化が再現でき、それらを併用薬であるダビガトランが実際に抑制することを確認した。古くから肺線維症モデルとして用いられるプレオマイシンは急速な線維化を特徴とするが、それに対してアミオダロンは炎症の後に線維化へと緩徐に進行することから、一部の臨床病態を適切に反映するモデルであると考えられる。詳細な解析を加えた結果、トロンピン受容体から血小板由来増殖因子 (PDGF) α 受容体を介する肺線維化の治療標的パスウェイを薬理学的に見だし、新たな抗線維化標的としてPDGF 受容体を提案した。

テーマ3：プラミペキソールによる強迫性障害

FAERS からプラミペキソールによる OCD 様行動のオッズ比を大きく低減させる併用薬としてプロトンポンプ阻害薬 (PPI) を見いだした。この仮説は米国 IBM レセプトを用いて傷病名から OCD に関連する事象を抽出し、ドパミン刺激薬と PPI の単独処方あるいは併用例について時系列解析を行うことでも支持された。そこでマウスにドパミン刺激薬キンピロールを連続投与して OCD 様の過剰反復行動と逆転学習障害モデルを作成し、PPI の有効性を全身投与や脳内局所投与などを行って確認することに成功した。さらに習慣性行動の制御に参与すると想定されている前頭前野および線条体の神経核に対して光遺伝学的ツールあるいは化学遺伝学的ツールをウイルスベクターで導入することによって、特定の神経サブセットを任意のタイミングで興奮あるいは抑制させる。この手法で PPI の作用メカニズムは代謝に伴って発生したプロトン排出するポンプ ATP4A を PPI が抑制することによって、細胞内 pH の低下を招き、これが眼窩前頭皮質ニューロンの発火抑制を起こすことで異常な強迫性行動を減少させることを見いだした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Zhou Zijian, Nagashima Takuya, Toda Chihiro, Kobayashi Mone, Suzuki Takahide, Nagayasu Kazuki, Shirakawa Hisashi, Asai Satoshi, Kaneko Shuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Vitamin D supplementation is effective for olanzapine-induced dyslipidemia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1135516
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2023.1135516	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Siswanto Soni, Yamamoto Hiroki, Furuta Haruka, Kobayashi Mone, Nagashima Takuya, Kayanuma Gen, Nagayasu Kazuki, Imai Yumiko, Kaneko Shuji	4. 巻 12
2. 論文標題 Drug Repurposing Prediction and Validation From Clinical Big Data for the Effective Treatment of Interstitial Lung Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2021.635293	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Nagaoka Koki, Nagashima Takuya, Asaoka Nozomi, Yamamoto Hiroki, Toda Chihiro, Kayanuma Gen, Siswanto Soni, Funahashi Yasuhiro, Kuroda Keisuke, Kaibuchi Kozo, Mori Yasuo, Nagayasu Kazuki, Shirakawa Hisashi, Kaneko Shuji	4. 巻 6
2. 論文標題 Striatal TRPV1 activation by acetaminophen ameliorates dopamine D2 receptor antagonist?induced orofacial dyskinesia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.145632	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hatakama Hikari, Asaoka Nozomi, Nagayasu Kazuki, Shirakawa Hisashi, Kaneko Shuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Amelioration of obsessive-compulsive disorder by intracellular acidification of cortical neurons with a proton pump inhibitor	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41398-024-02731-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kaneko Shuji	4. 巻 47
2. 論文標題 A Novel Strategy for the Discovery of Drug Targets: Integrating Clinical Evidence with Molecular Studies	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 345 ~ 349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b23-00831	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 遅発性ジスキネジアの治療又は予防用組成物、及び遅発性ジスキネジアを治療又は予防するための有効成分のスクリーニング方法	発明者 金子周司他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、W02021/002352	取得年 2021年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永安 一樹 (Nagayasu Kazuki) (00717902)	京都大学・薬学研究科・助教 (14301)	
研究分担者	浅井 聡 (Asai Satoshi) (80231108)	日本大学・医学部・教授 (32665)	
研究分担者	浅岡 希美 (Asaoka Nozomi) (90826091)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------