

創薬基盤推進研究事業 研究開発課題 事後評価報告書

研究開発課題名	疾患モデルとしての有害事象の解析による創薬標的の導出
代表機関名	国立大学法人京都大学
職名	教授
研究開発代表者名	金子 周司
全研究開発期間	平成 30 年度～令和 2 年度

1. 研究開発成果

本研究は、米国 FDA の有害事象自発報告データベース FDA Adverse Event Reporting System (以下、FAERS) および国内 JMDC 社保険請求明細データベース(以下、JMDC レセプト)を活用して、疾患と薬物治療における未知の関係性をマイニングするという独自アプローチで既存薬の中から薬物の有害事象を予防する薬物の探索(ドラッグリポジショニング)および有害事象に類似した病態メカニズムを有する疾患や症状に対する新規創薬標的の発見の2つを同時に可能にすることを目的にした。本研究開発では着手した当初において、次の4有害事象テーマを掲げた。

【テーマ 1】非定型統合失調症治療薬クエチアピンによって起こる高血糖・糖尿病

【テーマ 2】フルオロキノロン抗菌薬によって起こる腱障害

【テーマ 3】プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブによって起こる末梢ニューロパチー

【テーマ 4】抗ドパミン薬の長期使用によって起こる口唇ジスキネジア

また、研究過程において関連する事象が新たに見出されたため、次の2テーマを追加した。

【テーマ 1'】非定型統合失調症治療薬によって起こる脂質異常症

【テーマ 4'】ドパミン受容体刺激薬によって起こる強迫性行為障害(OCD)

なお、当初計画で予定していた分子ドッキングシミュレーションであるが、構造生物学的にタンパク質標的の立体構造が解けていない創薬標的が多いことが判明した。そこで代わりに画像認識に優れた性能をもつグラフ畳み込みニューラルネットワークを用いた深層学習を用いて、化合物の化学構造式と標的タンパク質への親和性を学習させることで分子ドッキングに代わる親和性予測を可能にすることに成功した。

【テーマ 1】クエチアピン高血糖

先行研究においてクエチアピンによって起こる高血糖はPI3K経路の阻害を介して発生し、ビタミンD併用によるPI3K経路律速分子の発現上昇により高血糖が軽減することが分かっていた(Nagashima et al. 2016)。本研究ではクエチアピン処方を受けた患者における血糖値の推移を調べる目的で、JMDCレセプト(555万人)中の約4割含まれている年次の健康診断における臨床検査値の利用を試みた。ビタミンDの処方は高齢女性に多いため、傾向スコアマッチングによって患者背景を揃えた2群間において、ビタミンD処方によって有意な血糖値減少が認められた。この

ことから、JMDC レセプトを用いても客観的な指標による長期有害事象のモニターが可能であることが初めて明らかになった。高血糖・糖尿病の治療標的としての PI3K 経路分子の発現調節について RNAseq 等を用いて詳細に検討した結果、PI3KR1 アダプター分子がクエチアピンの阻害標的であり、その発現をビタミン D が顕著に上昇させることが明らかになった。また本標的分子の発現をノックダウンすることによって、クエチアピン高血糖が再現された。これら一連の実験結果から、高血糖・糖尿病の 1 類型の創薬標的として PI3KR1 を初めて明らかにした。

【テーマ 1'】オランザピン脂質異常

上述の FAERS および JMDC 解析を行う中で、クエチアピンと同類の薬物であるオランザピンでは脂質異常症が顕著に観察されること、さらにその脂質異常症に対して併用薬 X1 が改善作用を有することを見出した。そこで傾向スコアマッチングで患者背景を揃えた JMDC レセプト健診値を用いて脂質指標の推移を調べたところ、オランザピンの初回処方より 1 年以前に併用薬 X1 を併用している患者において、中性脂肪 (TG) 値には変化は見られないものの、オランザピン単独処方患者で見られる脂質異常 (LDL 高値、HDL 低値) が有意に改善することが明らかになった。この脂質異常に対する改善作用についてマウスを用いて再現実験を行ったところ、現時点までに LDL 高値と併用薬 X1 による改善の再現が得られた。分子機序は候補が得られたが実証には至っていないため研究を継続している。

【テーマ 2】フルオロキノロン腱障害

フルオロキノロン系抗菌薬は希に腱障害を惹起することがよく知られている。FAERS を用いてフルオロキノロン誘発腱障害を軽減する薬物を検索したところ、併用薬 X2 がフルオロキノロン腱障害を最も軽減する併用薬として浮かび上がった。この仮説について JMDC レセプトを用いて経時的解析を行った結果、様々な交絡因子を考慮した層別解析においても有意な改善作用が認められることが判明した。併用薬 X2 の改善作用メカニズムについてはラットを用いた *in vivo* での実証に成功し、初代培養腱細胞を用いた *in vitro* での検討を進めているところで興味深い知見が得られつつあり、研究を継続している。

【テーマ 3】ボルテゾミブ疼痛

多発性骨髄腫治療薬ボルテゾミブはプロテアソーム阻害により細胞増殖を阻害するが、臨床的には末梢感覚ニューロパチーが必発することが問題となっている。そこで FAERS を用いてボルテゾミブ誘発ニューロパチーを低減する併用薬を探索したところ、併用薬 X3 に最も強いシグナルが検出された。*In vivo* での実証においては、ボルテゾミブ 2 週間投与により、マウス後肢をフィラメント刺激した際の逃避反応の圧閾値が低下し、ボルテゾミブ誘発アロディニアモデルが作成できた。このアロディニア誘発マウスに併用薬 X3 を投与したところ有意な圧閾値低下の一過性消失が観察された。ボルテゾミブによるアロディニア発生メカニズムと併用薬 X3 の作用メカニズムについて

は関与する細胞腫の同定と細胞メカニズムまでは明らかにしており、現在、疼痛発生および緩和機序について分子レベルでの特定を急いでいる。

【テーマ 4】抗ドパミン薬ジスキネジア

統合失調症治療薬に代表されるドパミン D2 受容体遮断薬の長期使用によって遅発性ジスキネジアが起こることが知られている。FAERS を用いてジスキネジア発症に影響する因子を探索した結果、いずれの D2 受容体遮断薬が処方された場合でも、最も低減効果が大きいのは中枢性解熱鎮痛薬アセトアミノフェンであった。この仮説を傾向スコアマッチングで患者背景および累積投与量と投与期間を揃えた JMDC レセプトを用いて確認したところ、アリピプラゾール処方開始後に漸増するジスキネジアの 3 年発症率はアセトアミノフェンで半減することが明らかになった。実験動物を用いた実証では、ラットあるいはマウスにハロペリドールを 21 日間連続経口投与すると、22 日目の退薬時には口唇自発運動 (VCM) が見られることをジスキネジアの指標とした。アセトアミノフェンの鎮痛作用と解熱作用にはそれぞれ TRPV1 および TRPA1 の関与が知られているので、それらの遺伝子欠損マウスを用いて野生型と比較したところ、ハロペリドール誘発 VCM はアセトアミノフェンの直前投与によって有意に減少し、TRPV1 欠損マウスではその作用が消失したが TRPA1 欠損マウスでは野生型と同様の抑制効果が見られた。最終的に、抗ドパミン薬誘発ジスキネジアに対するアセトアミノフェンの有効性は、脳内代謝物である AM404 が TRPV1 チャンネルを介して背側線条体 D2 受容体含有 GABA ニューロンを活性化することに起因する結論された。したがって、中枢移行性の高い低刺激性 TRPV1 アゴニストは新たなジスキネジア治療薬になりうると考えられる。本研究成果については国内および国際特許の申請と論文発表を済ませた。

【テーマ 4'】D2 強迫性障害

ジスキネジアに関する検討を行っていくうちに、パーキンソン病治療薬であるドパミン受容体刺激薬の使用によってジスキネジアに似た常同行動を伴う強迫性行為障害 (OCD) が多数報告されていることに気づいた。また薬剤性 OCD 頻度を低下させる併用薬 X4 が浮かび上がってきた。そこで、OCD 動物モデルを作成し、病態形成メカニズムと治療標的を探ることにした。ドパミン D2/D3 受容体刺激薬であるキンピロールの連続投与により、飼育箱の床敷きチップをかみ続ける異常行動と T 字迷路を用いた学習課題で報酬サイドを反転させた時の新たな環境に適応するための逆転学習が阻害されることが明らかになり、外側前頭皮質の発火が亢進していること、セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) が一部にしか聞かないという性質から OCD モデルが作成できたと考えられた。現在までに本 OCD モデルを用いることで神経異常メカニズムと SSRI の部分有効性、アデノシン A2A 受容体遮断薬の有効性を明らかにし、脳内投与した併用薬 X4 の有効性も実証することができた。本研究については創薬標的の発掘を継続している。

Abstract

Recent pharmacological studies have been developed based on finding new disease-related genes, accompanied by the production of gene-manipulated disease model animals and high-affinity ligands for the target proteins. However, the emergence of gene-based strategy in drug development has led to the rapid depletion of drug target molecules.

To overcome this, we have attempted to utilize clinical big data to explore a novel and unexpected drug–drug interaction that would lead to the treatment of human disease related to the adverse event. The present study utilized the US FDA's Adverse Event Reporting System (FAERS) and the domestic JMDC insurance claim statement database (JMDC claims) to determine the unknown relationship between disease and drug treatment. By searching for drugs that prevent adverse events from existing drugs, it enabled drug repositioning as well as discovering new drug targets for the diseases and symptoms that have a pathological mechanism similar to the adverse events. In this study, the following six adverse events and their mechanisms were explored.

[Theme 1] Hyperglycemia/diabetes caused by an antipsychotic quetiapine

[Theme 1'] Dyslipidemia caused by an atypical antipsychotic olanzapine

[Theme 2] Tendinopathy caused by fluoroquinolone antibacterial agents

[Theme 3] Peripheral neuropathy caused by the proteasome inhibitor bortezomib

[Theme 4] Orofacial dyskinesia caused by long-term use of anti-dopaminergic drugs

[Theme 4'] Obsessive-compulsive disorder (OCD) induced by the dopamine receptor agonists

Through the present project, we could find at least one effective concomitant drug for each adverse event, and all the advantageous effects were successfully confirmed in the chronological analyses of JMDC claims data. We have also established *in vivo* and *in vitro* assays that mimicked human adverse events using rodents and human cells, and reproduced the therapeutic effects of concomitant drugs. To date, we have obtained two new drug targets, PI3KR1 for hyperglycemia and TRPV1 for tardive dyskinesia, and been searching for other target molecules.

In addition, we have developed a new machine learning technique using graph convolutional neural network to predict the affinity of a particular compound for the drug targets solely from the chemical structure of compound. A virtual screening using the constructed model identified a new serotonin transporter inhibitor with activity comparable to that of a marketed drug *in vitro* and exhibited antidepressant effects in behavioural studies.

2. 総合評価

優れている

【評価コメント】

レセプトデータベース等における有害事象の薬物治療による変動を解析することで、疾患と薬物治療における未知の関係性をマイニングし、生物学的評価により創薬標的の同定を行ったことは評価できる。この新たな創薬標的を見出すアプローチが取り入れられ、普及していくことを望む。

今後、最終的な成果の創出には至らなかったいくつかのサブテーマについても研究を継続し、創薬標的創出に貢献することを期待する。

以上