

# 日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

## I 基本情報

研究開発課題名：大規模診療データベースからの既存薬の新規薬理作用抽出に基づく肝臓関連疾患の創薬標的分子の創出

Generation of drug target molecules for liver-related diseases based on the medical database

研究開発実施期間：令和2年12月1日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名：林 久允

HAYASHI, Hisamitsu

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立大学法人東京大学 大学院薬学系研究科 准教授

The University of Tokyo, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor

## II 研究開発の概要

本研究課題では、研究開発項目1：大規模診療データベースからの既存薬の新規薬効の抽出、研究開発項目2：既存薬の新規薬効を規定する分子基盤の推定、研究開発項目3：推定された分子基盤の実験科学的検証の工程により、臨床知見に根差した創薬標的分子の同定に取り組んだ。

### 研究開発項目1：大規模診療データベースを用いた肝臓関連疾患に対する既存薬の新規薬効探索

クレンジング済みの大規模診療データベースに含まれる処方薬、生化学検査値に着目して統計解析を行い、肝臓関連疾患（以下、対象疾患）への新規薬効が推察される既存薬を取得した。当薬群を既存知見に基づき層別化後、病態モデルマウスを用いた薬効検証試験を実施し、対象疾患との関連性が未知かつ、対象疾患への薬効が期待される既存薬を同定した。従って、申請時に提案した手法による大規模診療データベースの探索的解析が、確かに既存薬の新規薬効探索に資することが明らかとなった（当初予定通りの成果が得られた）。以下に実施内容を詳述する。

#### (1) 大規模診療データベースの解析による既存薬の新規薬効探索

クレンジング済み大規模診療データベース（～3,000万人分）より、対象疾患に罹患している患者について、処方薬と生化学検査値の関係性を抽出した。各患者について、対象疾患のマーカーである生化学検査値を目的変数とし、処方薬の曝露が与えるマーカーへの影響を評価した。まず総コレステロールを対象に既存薬の新規薬効（コレステロール降下作用）探索に取り組んだ。スタチン類など総コレステロールを低下させる既知の医薬品が正しく抽出され、目的に合致した化合物が取得可能な解析系が確立できたと判断した。総コレステロール以外の生化学検査値についても同様のプラットフォームで探索的解析を実施し、既存知見と一致する医薬品（グルコース、AST を

減弱する候補の中にそれぞれインスリン、ウルソ)が検出されることを確認した。次に、年齢、性別、罹患疾患等の背景因子で層別化したコホートなど、種々のコホートデータを多角的に解析し、プログラムの精度・汎用性を検証した。

以上の解析を通じて取得した既存薬群は、同じ分子基盤により対象疾患を是正するとは限らない。そこで既存知見に基づき当薬群を層別化し、以降の解析に供する既存薬を選別した。

#### (2) マウスを用いた対象疾患への作用の確認

高脂肪食負荷やメチオニン/コリン欠乏食負荷等の常法により対象疾患のモデルマウスを作出し、(1)で見出した既存薬の対象疾患に対する作用を評価した。既存薬の投与設計は、当該薬のインタビューフォーム、及び文献より薬物動態情報を探索し、取得した知見に基づき決定した。その結果、実際にモデルマウスで期待した薬効を示す既存薬を同定するに至った。

### 研究開発項目 2：既存薬の新規薬効を規定する分子基盤の推定

以下に詳述する手順により、研究開発項目 1 で見出した既存薬の新規薬効を規定する分子基盤候補(未知薬理作用)を見出した(当初予定通りの成果が得られた)。

研究開発項目 1 で見出した既存薬を病態モデルマウスに投与した。臨床用量相応の投薬を 2 週間継続した後、肝臓を単離した。取得した肝臓から抽出した RNA をトランスクリプトーム解析に供し、当該薬が肝臓に及ぼす作用について遺伝子発現プロファイルを取得した。本データを薬理作用分離解析、GO 解析、pathway 解析等に供し、多角的に解析することにより当該薬が作用する分子基盤を推定した(統計的有意に見出された)。

※薬理作用分離解析：一般に複合的である薬物の作用をオミクス解析により数値化した後、教師なしに分離・縮約することで、主作用から副次的な作用までを含めて評価可能にする方法論である(Mizuno T, Sci Rep 2019;9(1):1824)。

### 研究開発項目 3：推定された分子基盤の実験科学的検証による創薬標的分子の同定

研究開発項目 2 で見出した分子基盤が、対象疾患の創薬標的分子に資することを実験科学的に検証することに成功した(当初予定通りの成果が得られた)。

#### (1) 推定された分子基盤に対する既存薬の作用の確認

研究開発項目 1 で見出した既存薬を病態モデルマウスに投与し、肝臓を単離した。取得した肝臓を分子生物学、生化学、病理学解析等に供し、当該薬が、研究開発項目 2 で推定した分子基盤に作用していることをマウス個体レベルで確認した。

#### (2) 推定された分子基盤が対象疾患に及ぼす影響の確認

研究開発項目 2 で見出した分子基盤に含まれる遺伝子群を対象とし、肝臓特異的 KO マウスを作出した。当該マウスを解剖し、対象疾患の血液マーカー(生化学検査値)の測定、ならびに肝病理評価を実施した。その結果、複数の遺伝子が対象疾患の血液マーカー(生化学検査値)の変動に関与することが確認された。

In this research project, we worked on the identification of drug target molecules based on clinical findings by the following process: item 1: Extraction of novel efficacy of the approved drugs from the medical data, item 2: Estimation of molecular mechanisms that define unknown efficacy of the approved drugs, and item 3: Experimental scientific validation of the estimated molecular mechanisms.

Item 1: Search for novel efficacy of the approved drugs for liver-related diseases using the medical database

Using the cleansed medical database, we conducted statistical analysis focusing on prescription drugs and biochemical test values. As a result, we obtained the approved drugs presumed to have novel efficacy for liver-related diseases (hereafter referred to as "target diseases"). After classifying these drugs based on existing knowledge, we conducted a validation study to clarify the novel drug efficacy using a diseased mouse model. As a result, we identified the approved drugs with an unknown relationship to the target disease. Therefore, it became clear that the exploratory analysis using the medical database, which was proposed at the time of the application, was conducive to searching for new efficacy of the approved drugs.

Item 2: Estimation of the molecular mechanism for the novel efficacy of the approved drugs

The approved drugs in item 1 were administered to a diseased mouse model. The liver was isolated after two weeks of drug administration at the clinical dose. RNA extracted from the liver was subjected to transcriptome analysis to obtain gene expression profiles. This data was subjected to pharmacological segregation analysis, GO analysis, pathway analysis, etc., and the molecular mechanisms of the drug action were estimated based on the statistical analysis.

Item 3: Identification of drug target molecules through experimental validation of the inferred molecular mechanisms

(1) Confirmation of the effects of the approved drugs on the molecular mechanisms

The approved drugs found in item 1 were administered to diseased model mice, and their livers were isolated and subjected to molecular biology, biochemistry, and pathology analysis. As a result, it was confirmed that the drug acts on the molecular mechanisms estimated in item 2.

(2) Confirmation of the effect of the molecular mechanisms on the target disease

Liver-specific KO mice were generated by targeting a group of genes included in the molecular mechanisms found in item 2. The mice were analyzed to evaluate blood markers (biochemical test values) for the target disease and liver histology. As a result, several genes were confirmed to be involved in regulating blood markers (biochemical test values) of the target diseases.