

京都大学	博士（薬科学）	氏名	ZHOU ZIJIAN
論文題目	A drug repurposing study based on clinical big data for the protective role of vitamin D in olanzapine-induced dyslipidemia (臨床ビッグデータに基づくオランザピン誘発脂質異常症に対するビタミンDの予防作用の解明)		
<p>Olanzapine is one of the most used atypical antipsychotics treating schizophrenia by blocking the dopamine D<sub>2</sub> receptors and serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the central nervous system. However, it has been reported to have a tremendous clinical risk of inducing dyslipidemia, characterized by increased triglycerides and low-density lipoproteins, accompanied by decreased high-density lipoproteins in the blood. So far, there is neither a profound understanding of the molecular mechanism of olanzapine-induced dyslipidemia nor effective treatments or interventions for the adverse events. In attempts to find a new approach, fast and low-cost drug development through drug repurposing methods has become a promising alternative strategy. Several explorations have been made in drug repurposing studies. One of them used clinical big data, which consists of an enormous collection of detailed medical practices with particular outcomes, allowing investigations on ever-overlooked drug-drug interactions and new treating potentials of the present drugs for unknown targets. This study followed this path by joining three separate sources of clinical big data for a cross-corroboration on the protective effects of vitamin D supplements on blood lipid profile deterioration that happens when treated with olanzapine. This hypothesis was validated in rodent <i>in vivo</i> models and further explored for the molecular mechanisms by <i>in vitro</i> models.</p> <p><b>Chapter 1. Data mining approach for effective prevention of olanzapine-induced dyslipidemia</b></p> <p>Three sources of clinical big data were utilized for large-scale screening of drugs potent to prevent olanzapine-induced dyslipidemia. First, the US Food and Drug Administration adverse event reporting system investigations revealed that vitamin D supplementary is strongly associated with a lower reporting rate of olanzapine-induced dyslipidemia. To establish a clear causal relationship, JMDC insurance claims containing precise dates of prescriptions were introduced. A significant suppression by vitamin D supplements on olanzapine-induced blood lipid profile deterioration was detected in annual blood tests. Furthermore, daily tracing of blood lipid profiles in Nihon University School of Medicine’s Clinical Data Warehouse medical records revealed that olanzapine induces dyslipidemia as early as six months after the first prescription while vitamin D constantly maintained blood lipid level stable. To conclude, vitamin D supplements have clinical significance in preventing olanzapine-induced dyslipidemia.</p> <p><b>Chapter 2. Experimental validation for the effect of vitamin D on olanzapine-induced dyslipidemia</b></p> <p>A rodent model of olanzapine-induced dyslipidemia was established in mice administrated with olanzapine (10 mg/kg) orally for five days. The blood test on mice after the treatment displayed increased low-density lipoproteins and decreased high-density lipoproteins, implicating a disturbance of blood lipid homeostasis by olanzapine. A one-week preload of a vitamin D-supplemented diet significantly improved these changes. Further investigations on the direct impacts of olanzapine and vitamin D on cholesterol biosynthesis in cultured mice cells with RNA-seq revealed that olanzapine hardly directly influenced the cholesterol synthesis process. In contrast, calcitriol (bioactive form of vitamin D) had an apparent inhibition on the cholesterol biosynthesis gene expressions in the C2C12 mouse myocyte cell line, which is further proved to be mediated by upregulation of <i>Insig2</i> expression via activation of vitamin D receptors.</p>			

**Conclusion**

Clinical big data-based drug repurposing approach demonstrated a high potential to discover drug combinations effective for olanzapine-induced dyslipidemia. Also, this study revealed that vitamin D receptor-mediated expression of INSIG2 is a promising druggable target to be utilized for dyslipidemia treatment.

(論文審査の結果の要旨)

オランザピンは、中枢神経系のドーパミン D2 受容体およびセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体を遮断することにより、統合失調症の治療に最も使用される非定型抗精神病薬の一つである。しかし、血中のトリグリセリドや低密度リポ蛋白の増加、高密度リポ蛋白の減少を特徴とする脂質異常症を誘発する臨床リスクが非常に高いことが報告されている。これまでのところ、オランザピンによる脂質異常症の分子メカニズムに関する深い理解や、有害事象に対する有効な治療法や介入法は確立されていない。そこで、新たなアプローチとしてドラッグリポジショニング (DR) による迅速かつ低コストな医薬品開発が有望視されている。DR 研究では、いくつかの試みがなされてきたが、そのひとつが膨大な数の医療行為とその結果を集積した臨床ビッグデータを用いたものであり、これまで見過ごされてきた薬物間相互作用や未知の標的に対する現在の薬剤の新たな治療可能性を検討することができるようになった。本研究では、3つの臨床ビッグデータを統合し、オランザピン投与時に起こる血中脂質プロファイルの悪化に対するビタミン D サプリメントの保護効果について相互確証を得た。さらに本仮説はげっ歯類 *in vivo* モデルで検証され、さらに *in vitro* モデルで分子メカニズムが探索された。

第1章 オランザピンによる脂質異常症を効果的に予防するためのデータマイニング

オランザピン誘発性脂質異常症の予防に有効な薬剤を大規模にスクリーニングするため、3つの臨床ビッグデータを活用した。まず、米国食品医薬品局の有害事象報告システムの調査から、ビタミン D の補給はオランザピン誘発性脂質異常症の報告率の低下と強い関連があることが明らかになった。この因果関係を明らかにするために、処方された正確な日付が記載された JMDC 社の保険請求データを解析した。年 1 回の健診血液検査でオランザピンによる血中脂質プロファイル悪化に対するビタミン D 併用による有意な抑制が検出された。さらに、日本大学医学部臨床データの診療録から血中脂質プロファイルを追跡したところ、オランザピンは初回処方から 6 カ月すると脂質異常症を引き起こすが、ビタミン D は常に血中脂質レベルを安定に保っていることが明らかになった。結論として、ビタミン D 併用はオランザピンによる脂質異常症の予防に臨床的意義が見いだされた。

第2章 オランザピン誘発性脂質異常症に対するビタミン D の効果に関する実験的検証

オランザピン (10 mg/kg) を 5 日間経口投与したマウスを用い、オランザピン誘発性脂質異常症のげっ歯類モデルを構築した。投与後の血液検査では、低密度リポ蛋白の増加および高密度リポ蛋白の減少が認められ、オランザピンによる血中脂質の恒常性障害が示唆された。ビタミン D 補充食を 1 週間前負荷することにより、これらの変化は有意に改善された。さらに、オランザピンおよびビタミン D がマウス培養細胞のコレステロール生合成に及ぼす直接的な影響について RNA-seq を用いて検討した結果、オランザピンはコレステロール生合成過程にほとんど直接影響を及ぼさないことが明らかとなった。一方、カルシトリオール (生理活性型ビタミン D<sub>3</sub>) は、C2C12 マウス筋細胞においてコレステロール生合成遺伝子発現を明らかに抑制し、さらにビタミン D 受容体の活性化を介した Insig2 発現のアップレギュレーションが介在していることが証明された。

以上、臨床ビッグデータに基づく DR は、オランザピン誘発性脂質異常症に有効な薬剤の組み合わせを提示した。また、ビタミン D 受容体を介した INSIG2 の発現は、脂質異常症治療に活用できる有望な創薬標的であることが明らかとなった。

よって、本論文は博士 (薬科学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 5 年 2 月 14 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。