

京都大学	博士（薬学）	氏名	古田 晴香
論文題目	臨床ビッグデータ解析と薬理学的実験の統合による腱障害予防法の探索		

腱障害とは腱が脆弱化し疼痛や断裂が生じる病態であり、運動器障害の30%を占めている。腱は他の運動器と比較して血流に乏しく代謝が遅いため、障害された腱の強度はある程度回復しても元の強度には決して戻らない。そのため、腱障害は予防が肝心である。過去の研究から腱障害には加齢やフルオロキノロン系抗菌薬（FQ）など様々な内的・外的要素がリスク因子として明らかにされてきたが、その詳細な発症メカニズムは解明されておらず、有効な予防法も存在しない。そこで、近年医療や創薬への活用が期待されている有害事象自発報告データベースやレセプトデータベースといった臨床ビッグデータに注目した。著者は薬剤性腱障害であるFQ誘発腱障害、自然発症の腱障害である加齢性腱障害に着目し、それぞれを予防しうる既存薬は前者は有害事象データベースでの交絡因子として後者はレセプトデータベースでの交絡因子として同定可能であると考えた。そこで臨床ビッグデータ解析からFQ誘発腱障害及び加齢性腱障害の予防薬を導出し、その薬物を鍵に薬理学的実験を展開し腱障害の創薬標的を探索した。

### 第1章 臨床ビッグデータ解析による腱障害予防薬の探索

本章では4種類の臨床ビッグデータ解析を用いて腱障害を抑制しうる薬物を探索した。まず、3種類の有害事象自発報告データベース（米国のFDA Adverse Event Reporting System・日本のJapanese Drug Adverse Event Report・加国のCanada Vigilance Adverse Reaction Online Database）からFQ誘発腱障害を抑制しうる薬物を探索したところ、腱障害のリスク因子として従来言われてきたデキサメタゾンが見出された。そこで、米国レセプトデータベースIBM MarketScan Databaseを用いた時系列解析からデキサメタゾンの効果をさらに検証したところ、FQ誘発腱障害がデキサメタゾンによって抑制されることが明らかになった。さらに、IBM MarketScan Database に登録された65歳以上の患者を抽出し加齢性腱障害へのデキサメタゾンの適応を検討した。その結果、加齢性腱障害もデキサメタゾンにより抑制されることが示された。以上の臨床ビッグデータ解析から、フルオロキノロン及び加齢によって誘発される腱障害がデキサメタゾンによって抑制される可能性が示された。

### 第2章 薬理学的実験による腱障害予防メカニズムの探索

本章では臨床ビッグデータ解析から得られた仮説を動物及び細胞を用いた薬理学的実験で検証した。FQの一種であるペフロキサシンをラットに慢性投与し、FQ誘発腱障害モデルを作製した。ペフロキサシンによりアキレス腱強度の脆弱化や組織学的変化、腱細胞のDNA損傷の増加が認められたが、モデル作製時にデキサメタゾンを併用することでそれらが抑制されることが明らかになった。そのメカニズムを探索するために薬物投与ラットのアキレス腱のRNAシーケンスを行った結果、酸化ストレスの関与が示唆され、デキサメタゾンが抗酸化酵素Glutathione Peroxidase 3 (GPX3)の遺伝子発現を顕著に増大させていた。そこで、デキサメタゾンやGPX3の役割に関して初代培養腱細胞を用いてさらに検討した。ペフロキサシンにより活性酸素種（ROS）の増加やDNA損傷が認められたがデキサメタゾンの前処置でいずれも抑制された。老化への関与が言われている酸化ストレスを与えることによって細胞老化モデルを作成するため過酸化水素を適用し、同時に処置したデキサメタゾンの効果を検討したところ、デキサメタゾンは過酸化水素が誘発するROS増加、老化

マーカー増加、DNA損傷をいずれも抑制した。レンチウイルスを用いてGPX3過剰発現膵細胞を作製し、ペフロキサシンや過酸化水素が起こす酸化ストレスに対する予防効果を検討したところ、GPX3過剰発現はデキサメタゾンと同様の抑制効果を示した。以上の結果から、デキサメタゾンはGPX3を介して酸化ストレスを減少させることが示唆された。

以上、著者は臨床ビッグデータ解析と薬理学的実験を統合することでデキサメタゾンがGPX3の発現を増加させることで酸化ストレスを抑制し、FQ誘発膵障害及び加齢性膵障害を抑制することを明らかにした。しかしながら、デキサメタゾンには骨粗鬆症や高血糖など他の様々な副作用が存在する。したがって、グルココルチコイド作用を伴わない、GPX3を特異的に発現上昇/活性化する手法が膵障害の予防戦略として将来的に求められると考えられる。本研究成果は膵障害の予防法開発に新たな知見をもたらし得るものである。

(論文審査の結果の要旨)

腱障害とは腱が脆弱化し疼痛や断裂が生じる病態であり、運動器障害の 30%を占めている。腱は他の運動器と比較して血流に乏しく代謝が遅いため、障害された腱の強度はある程度回復しても元の強度には決して戻らない。そのため、腱障害は予防が肝心である。過去の研究から腱障害には加齢やフルオロキノロン系抗菌薬 (FQ) など様々な内的・外的要素がリスク因子として明らかにされてきたが、その詳細な発症メカニズムは解明されておらず、有効な予防法も存在しない。そこで、近年医療や創薬への活用が期待されている有害事象自発報告データベースやレセプトデータベースといった臨床ビッグデータに注目した。著者は薬剤性腱障害である FQ 誘発腱障害、自然発症の腱障害である加齢性腱障害に着目し、それぞれを予防しうる既存薬は前者は有害事象データベースでの交絡因子として後者はレセプトデータベースでの交絡因子として同定可能であると考えた。そこで臨床ビッグデータ解析から FQ 誘発腱障害及び加齢性腱障害の予防薬を導出し、その薬物を鍵に薬理学的実験を展開し腱障害の創薬標的を探索した。

### 第 1 章 臨床ビッグデータ解析による腱障害予防薬の探索

4種類の臨床ビッグデータ解析を用いて腱障害を抑制しうる薬物を探索した。まず、3種類の有害事象自発報告データベース (米国のFDA Adverse Event Reporting System・日本のJapanese Drug Adverse Event Report・加国のCanada Vigilance Adverse Reaction Online Database) からFQ誘発腱障害を抑制しうる薬物を探索したところ、腱障害のリスク因子として従来言われてきたデキサメタゾンが見出された。そこで、米国レセプトデータベースIBM MarketScan Databaseを用いた時系列解析からデキサメタゾンの効果をさらに検証したところ、FQ誘発腱障害がデキサメタゾンによって抑制されることが明らかになった。さらに、IBM MarketScan Database に登録された65歳以上の患者を抽出し加齢性腱障害へのデキサメタゾンの適応を検討した。その結果、加齢性腱障害もデキサメタゾンにより抑制されることが示された。以上の臨床ビッグデータ解析から、フルオロキノロン及び加齢によって誘発される腱障害がデキサメタゾンによって抑制される可能性が示された。

### 第 2 章 薬理学的実験による腱障害予防メカニズムの探索

次に臨床ビッグデータ解析から得られた仮説を動物及び細胞を用いた薬理学的実験で検証した。FQの一種であるペフロキサシンをラットに慢性投与し、FQ誘発腱障害モデルを作製した。ペフロキサシンによりアキレス腱強度の脆弱化や組織学的変化、腱細胞のDNA損傷の増加が認められたが、モデル作製時にデキサメタゾンを併用することでそれらが抑制されることが明らかになった。そのメカニズムを探索するために薬物投与ラットのアキレス腱のRNAシーケンスを行った結果、酸化ストレスの関与が示唆され、デキサメタゾンが抗酸化酵素Glutathione Peroxidase 3 (GPX3)の遺伝子発現を顕著に増大させていた。そこで、デキサメタゾンやGPX3の役割に関して初代培養腱細胞を用いてさらに検討した。ペフロキサシンにより活性酸素種 (ROS) の増加やDNA損傷が認められたがデキサメタゾンの前処置でいずれも抑制された。老化への関与が言われている酸化ストレスを与えることによって細胞老化モデルを作成するため過酸化水素を適用し、同時に処置したデキサメタゾンの効果を検討したところ、デキサメタゾンは過酸化水素が誘発するROS増加、老化マーカー増加、DNA損傷をいずれも抑制した。レンチウイルスを用いてGPX3過剰発現腱細胞を作製し、ペフロキサシンや過酸化水素が起こす酸化ストレスに対する予防効果を検討したところ、GPX3過剰発現はデキサメタゾンと同様の抑制効果を示した。以上の結果から、デキサメタゾンはGPX3を介して酸化ストレスを減少させることが示唆された。

以上、著者は臨床ビッグデータ解析と薬理学的実験を統合することでデキサメタゾンがGPX3

の発現を増加させることで酸化ストレスを抑制し、FQ誘発腱障害及び加齢性腱障害を抑制することを明らかにした。しかしながら、デキサメタゾンには骨粗鬆症や高血糖など他の様々な副作用が存在する。したがって、グルココルチコイド作用を伴わない、GPX3を特異的に発現上昇/活性化する手法が腱障害の予防戦略として将来的に求められると考えられる。本研究成果は腱障害の予防法開発に新たな知見をもたらすものである。

よって、本論文は博士（薬学）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。

要旨公表可能日： 年 月 日以降