

日本大学医学部 臨床試験研究センター研究紀要

Bulletin of the Clinical Trials Research Center,
Nihon University School of Medicine

日本大学医学部臨床試験研究センター
Clinical Trials Research Center, Nihon University School of Medicine

目次

糖尿病患者における心不全入院の予測因子	高橋泰夫 他	1
機械学習手法を用いた急性腎障害の潜在的な薬物間相互作用の探索	秋元勇人 他	10
オランザピンによる脂質異常症に対するビタミンD併用の有効性	長島卓也 他	16
ベンゾジアゼピン系薬物使用に関連する認知症発症リスク及び因果逆転バイアスの日本大学医学部臨床情報統合データベースを用いた機械学習解析	早川隆 他	21
<i>DLGAP1</i> ノックアウトマウスにおける過剰グルーミング行動	皆川貴美乃 他	27

INDEX

Predictors of heart failure hospitalization in patients with diabetes mellitus	Yasuo TAKAHASHI et.al	1
Screening for potential drug-drug interactions for risk of acute kidney injury using a machine-learning algorithm	Hayato AKIMOTO et.al	10
Vitamin D supplementation is effective for olanzapine-induced dyslipidemia	Takuya NAGASHIMA et.al	16
Risk of dementia onset and protopathic biases associated with use of benzodiazepines revealed by machine learning with NUSM's CDW	Takashi HAYAKAWA et.al	21
Excessive self-grooming behavior in <i>DLGAP1</i> knockout mice	Kimino MINAGAWA et.al	27

糖尿病患者における心不全入院の予測因子

高橋泰夫^{*)}, 皆川貴美乃^{*)}, 早川隆^{*)**)}, 秋元勇人^{*)**)},
長島卓也^{*)**)}, 浅井聰^{*)**)}

Predictors of heart failure hospitalization in patients with diabetes mellitus

Yasuo TAKAHASHI^{*)}, Kimino MINAGAWA^{*)}, Takashi HAYAKAWA^{*)**)},
Hayato AKIMOTO^{*)**)}, Takuya NAGASHIMA^{*)**)}, Satoshi ASAI^{*)**)}

^{*)} 日本大学医学部臨床試験研究センター

^{**)} 日本大学医学部生体機能医学系薬理学分野

高橋泰夫: takahashi.yasuo@nihon-u.ac.jp

要旨

背景: 糖尿病は心不全の危険因子であるが、糖尿病患者における心不全の発生リスクへ影響を及ぼす要因のエビデンスは限定的である。

方法: 患者背景の要因と心不全による入院との関連を評価するため、ネステッドケースコントロール研究を行った。症例患者 1 人に対して、年齢、性別、登録日、フォロー期間をマッチングさせた最大 10 人の対照者を抽出した。症例対照比較には条件付き多変量ロジスティック回帰モデルを用いた。

結果: 症例群 308 人と対照群 1951 人に基づく条件付きロジスティック回帰分析により、心不全による入院の有意な危険因子は、過去の心不全 (OR:1.79; CI:1.30-2.46)、心房細動 (OR:1.58; CI:1.10-2.28)、虚血性心疾患 (OR:1.45; CI:1.07-1.97) と糖尿病性網膜症 (OR:1.58; CI:1.13-2.22)、処方歴から利尿薬 (OR:1.58; CI:1.17-2.14) と冠血管拡張薬 (OR:1.67; CI:1.21-2.25) の服用、および血液検査の血清 BUN 値 (OR:3.42; 1.04-11.24) であった。一方、症例患者は、対照者より、既往疾患の脳血管疾患 (OR:0.65; CI:0.47-0.91) と高脂血症 (OR:0.73; CI:0.55-0.96)、および血液検査の血清総蛋白値 (OR:0.24; 0.07-0.87) が有意に少なかった。

結論: 糖尿病患者の初回治療開始時において、患者の既往疾患や、処方歴、血液検査等の背景情報の中から、心不全による入院と関連がある予測因子として 10 個の要因を明らかにした。

1. はじめに

心不全の危険因子として、年齢、高血圧症、糖尿病、冠動脈疾患、肥満、喫煙、心筋梗塞の既往等が知られている¹⁾。心不全はこれらの複数の危険因子が連携して発症する可能性があり、原因は単純ではない。糖尿病は、血液中の高レベルのグルコースを特徴とする慢性疾患で、心臓に栄養を供給する血管や神経を損傷し、心不全の発症リスクを高め、心不全の予後を悪化させる可能性がある。したがって、糖尿病の治療計画を初めて作成する際には、患者の心不全のリスクを評価し、併

存疾患の存在や治療歴を考慮することに注目すべきである。しかし、糖尿病は心不全の発症に対する他の危険因子へ影響を及ぼす可能性があるため、糖尿病患者における併存疾患等の影響を、心不全のリスクの観点から評価したエビデンスは限られており、依然として議論の余地がある。

本研究の目的は、糖尿病の初回治療開始時に、その時点における患者の既往疾患や、処方歴、血液検査等の臨床情報の中から、心不全による入院と関連する要因を明らかにすることである。

2. 対象及び方法

2. 1. データソース

本研究は臨床データベースを用いた観察研究である。研究で使用した臨床データセットは日本大学臨床データウェアハウス (Nihon University School of Medicine's Clinical Data Warehouse; NUSM's CDW) より入手した。このデポジトリシステムは日本大学医学部附属板橋病院の病院情報システムより入手した医事情報、検査情報、薬剤オーダーリング情報等を統合して一元管理しており、個人情報の保護のために患者データはすべて匿名化されて格納されている²⁾。NUSM's CDWを用いた臨床研究はこれまでに数本報告されている^{3,4)}。この研究に関する患者情報と診療情報の取り扱い方は日本大学医学部倫理委員会の審査・承認を得た上で行った。

2. 2. 研究対象コホート

2005年1月1日から2022年11月30日までの期間に初めて下記の糖尿病薬(インスリンを除く)を処方された糖尿病患者のなかで、初回投与時の糖尿病薬を用いて14日以上治療を継続した患者を抽出した(Figure 1)。糖尿病薬の初回処方日を研究コホートの登録日と定義した。

- 1) メトホルミン塩酸塩
- 2) スルホニル尿素薬
- 3) チアゾリジン薬
- 4) DPP-4 阻害薬
- 5) GLP-1 受容体作動薬
- 6) α -グルコシダーゼ阻害薬
- 7) SGLT2 阻害薬
- 8) ミチグリニド

次に、下記の除外基準のいずれかを満たす患者を除外し、最終的に10,753名分の患者情報が研究対象となった。

- 1) 18歳未満の患者
- 2) データベースの履歴が365日未満の患者
- 3) 登録日以前にインスリンを使用した患者
- 4) 妊娠中の患者
- 5) 多嚢胞性卵巣症候群の患者
- 6) 登録日からのフォロー期間が30日未満の患者
- 7) アントラサイクリンを使用した患者

2. 3. アウトカムと説明変数

本研究のアウトカムは心不全による入院であり、これは、登録日～患者がデータベースを離脱するまでの期間中(登録後の最初の30日間を除く)に発症した心不全による入院として定義されました(Figure 2)。この心不全の定義は、電子カルテで識別できる高い信頼性と客観的な尺度による。また、登録日、及びそれ以前を共変量評価期間と定義して、この期間の診断歴、処方歴、血液検査データを調査してベースラインの説明変数とした(Table 1 and 2)。BNPとNT-proBNPは欠損値の割合が50%を超えていたため、説明変数から除外した。

2. 4. ケースとコントロール選択

研究対象コホートを源泉集団として、イベントが起きた時点ごとに、同じ観察期間のリスク集団からコントロールのサンプリング(リスクセットサンプリング)を行った。すなわち、イベントを起こした1人のケースに対して、年齢(± 365 days)、性別、登録日(± 180 日)、フォロー期間(± 180 日)をマッチングさせた最大10人のコントロールを抽出した。マッチングに使用した4変数はケースとコントロールの間に有意な偏りは認めなかった(Table 3)。

2. 5. 変数選択

本研究では、変数選択にBayesian variable selection (BVS) アルゴリズムを適用した。BVS法では、多変量ロジスティック回帰を使用して選択した各変数の事後確率を計算し、さらに各変数のベイズ因子(Bayes Factor, BF)を取得できる。我々は、関連性の確かな証拠を意味するBFが10以上の変数を選択し、後続の分析、すなわち、条件付きロジスティック回帰を使用した効果推定のための予測因子として使用した(Figure 1)。このBVS法を実装するソフトウェア(R2BGLiMS Rパッケージ)は、githubから入手した⁵⁾。

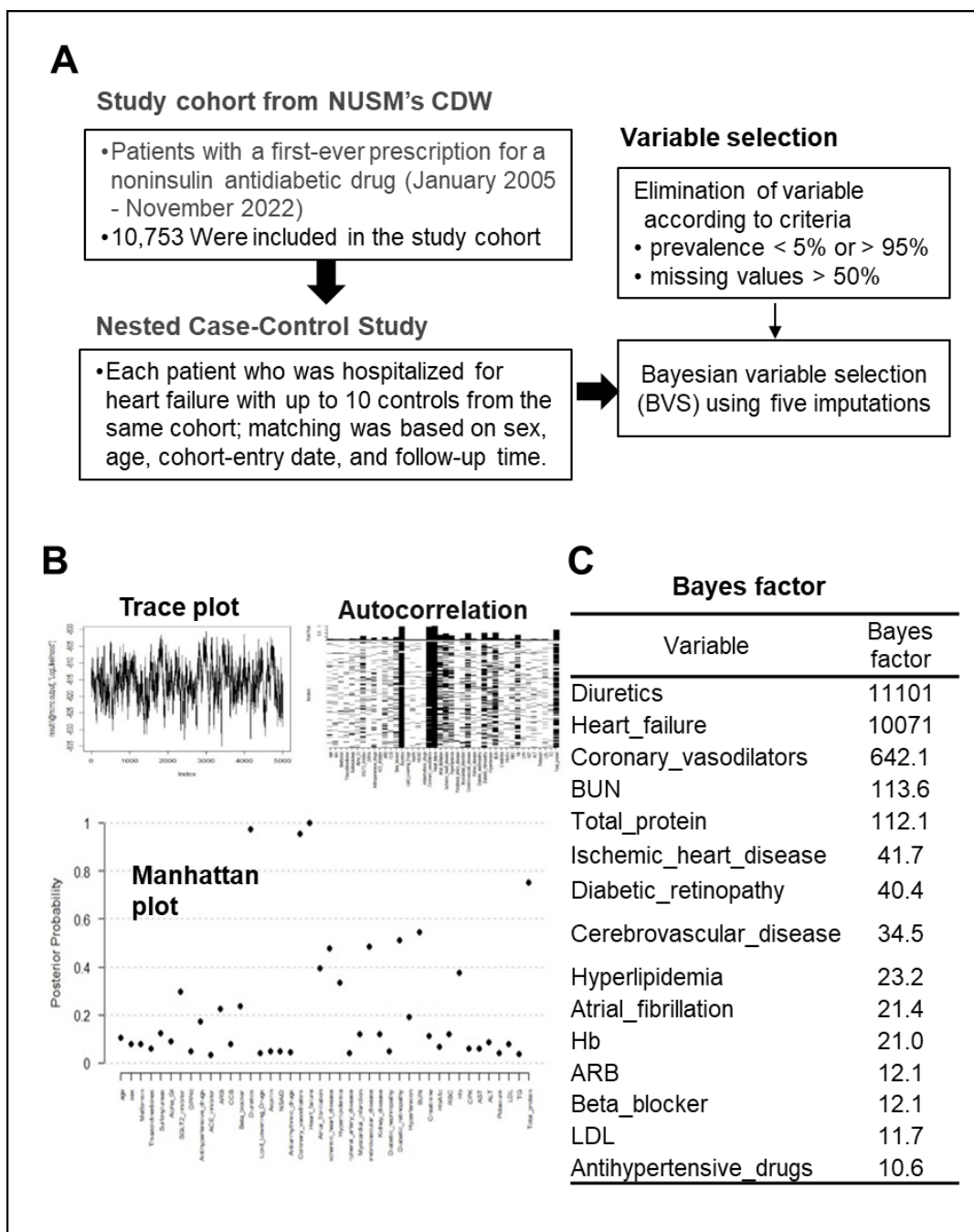


Figure 1. Summary of the nested case-control study and Bayesian variable selection.

A: A flowchart of extraction for the study cohort, matching, and variable selections. B: Results of bayesian variable selection (BVS). C: Fifteen variables, of which the Bayes factor showed more than 10, were chosen, and used in the next statistical stage of conditional logistic regression. Abbreviations: Nihon University School of Medicine's Clinical Data Warehouse, NUSM's CDW; ARB, angiotensin type II receptor blocker; BUN, blood urea nitrogen; Hb, Hemoglobin; LDL, low-density lipoprotein cholesterol.

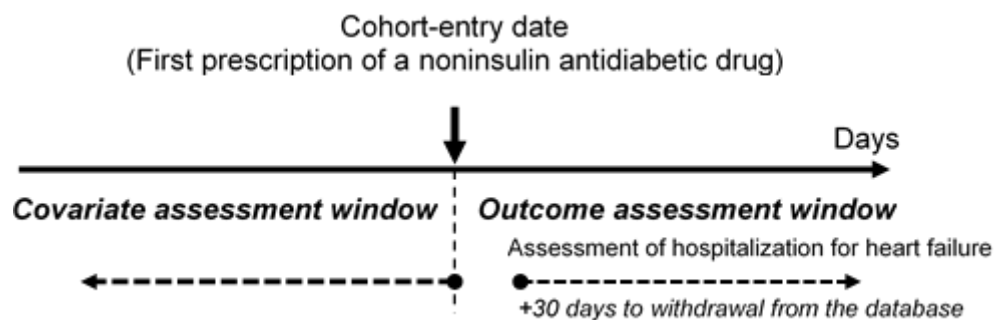


Figure 2 shows the assessment window for the study cohort.

Cohort-entry date (day 0) was defined as the first prescription date of a noninsulin antidiabetic drug. We collected demographic data, including age and sex, as well as medical histories (any time prior to day 0), medication use (-90 to 0 days), and laboratory parameters (-90 to 1 days) for each patient to use as covariates for adjustment. The outcome of interest was hospitalization for heart failure, which was defined as an admission to a hospital for heart failure during the study period from the entry date until the patient's withdrawal from the database, except for the first 30 days after the entry date.

Table 1. Baseline characteristics of the sub-cohort for the nested case-control study.

Characteristics	Case patients (N=308)	Controls (N=1951)
Women - no.(%)	78 (25.3)	459 (23.5)
Mean age - year \pm sd	68.2 \pm 0.7	67.8 \pm 0.2
Medical history - no.(%)		
Heart failure	185 (60.1)	628 (32.2)
Atrial fibrillation	67 (21.8)	199 (10.2)
Ischemic heart disease	193 (62.7)	770 (39.5)
Hyperlipidemia	137 (44.5)	902 (46.2)
Hypertension	263 (85.4)	1359 (69.7)
Myocardial infarction	129 (41.9)	451 (23.1)
Cerebrovascular disease	65 (21.1)	497 (25.5)
Diabetic complications - no.(%)		
Diabetic nephropathy	60 (19.5)	301 (15.4)
Diabetic retinopathy	62 (20.1)	300 (15.4)
Prescription drug use - no.(%)		
Antihypertensive drugs	243 (78.9)	1172 (60.1)
Alpha blocker	14 (4.5)	73 (3.7)
ACE inhibitor	51 (16.6)	206 (10.6)
ARB	154 (50.0)	689 (35.3)
Beta blocker	118 (38.3)	373 (19.1)
CCB	155 (50.3)	785 (40.2)
Diuretics	142 (46.1)	408 (20.9)
Coronary vasodilators	108 (35.1)	319 (16.4)

Cases and controls were matched for age, sex, year of cohort entry, and duration of follow-up. Abbreviations: ACE inhibitor, angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin type II receptor blocker; CCB, calcium channel blocker.

Table 2. Baseline blood test of sub-cohort for the nested case-control study.

Baseline laboratory parameters	Case patients mean±sd	Controls mean±sd
RBC (x10 ¹² /L)	4.1 ±0.04	4.3 ±0.02
Hemoglobin (g/L)	12.8 ±0.13	13.4 ±0.05
Total serum protein (g/dL)	6.7 ±0.04	6.9 ±0.02
HbA1c (%)	7.8 ±0.10	7.9 ±0.04
LDLC (mg/dL)	55.0 ±2.07	61.0 ±0.84
Triglyceride (mg/dL)	154.3 ±8.15	162.8 ±3.01
CPK (U/L)	162.3 ±17.78	137.7 ±6.01
Creatinine (mg/dL)	1.3 ±0.08	1.0 ±0.02
BUN (mg/dL)	21.8 ±0.77	17.7 ±0.20

Abbreviations: HbA1c, hemoglobin A1c; LDLC, low-density lipoprotein cholesterol; CPK, creatine phosphokinase; BUN, blood urea nitrogen; RBC; red blood cell count; sd, standard deviation.

Table 3. Baseline variables used for time-matching.

Variables	Case patients (N=308)	Controls (N=1951)
Women - no.(%)	78 (25.3)	459 (23.5)
Mean age - year±sd	68.2 ±0.7	67.8 ±0.2
Mean duration of follow-up - year±sd	4.3 ±0.2	4.4 ±0.1
year of cohort entry - no.(%)		
2005 - 2010	70 (57.9)	463 (59.4)
2010 - 2015	35 (28.9)	216 (27.7)
2015 - 2020	13 (10.7)	76 (9.7)
≥2020	3 (2.5)	25 (3.2)

Cases and controls were matched for age, sex, year of cohort entry, and duration of follow-up.

2. 6. 統計解析

前処理として、データを最小値 0~最大値 1 にスケールリング (正規化) した。血液検査データはすべてのパラメーターにおいて欠損値を含んでおり、多重代入法を用いて欠損値を補完した。補完値の生成方法として、ノンパラメトリックな近似ベイズ流ブートストラップ法 (Approximate Bayesian bootstrap; ABB) を使用した。代入回数に関して、変数選択の解析時は 5 回、効果推定の本解析時は 20 回を採用した。

心不全による入院イベントとベースライン時の予測因子の関連を評価するため、条件付きロジスティック回帰を行った。時点ごとのケースとコントロールの組を、Matched Case-Control サンプルと見なして層別解析を行い、BVS 法で選択された 15 変数を予測因子として式に組み入れ、補正済み効果を推定した。また、効果推定値からオッズ比 (Odds ratio, OR) と 95%信頼区間 (Confidence interval, CI) を計算した。有意水準は 5% とした。正規化、多重代入法、および条件付きロジスティック回帰分析は、SAS ソフトウェア (バージョン 9.4) を使用して実施された。

3. 結果

臨床データベース (NUSM's CDW) から研究対象のコホートを抽出する第一ステップとして、非インスリン抗糖尿病薬を初めて処方された患者の診療情報を調査・収集し、10,753 名の研究コホートを抽出した。コホート登録日を非インスリン抗糖尿病薬の最初の処方日と定義することで、コホート内のすべての患者が 2 型糖尿病と診断され、投薬治療を受けていることが保証された。第二ステップとして、前段で同定した研究コホートの中から、心不全による入院イベントを発生したケースと時点マッチングしたコントロールをサンプリングし、最終的にはケース群 308 人とコントロール群 1951 人から構成されたサブコホートを抽出した。Table 1 に患者背景の詳細を示す。ケース群およびコントロール群の年齢はそれぞれ、平均 68.2 歳 (標準偏差 0.7 歳) および 67.8 歳 (0.2 歳) であり、女性の割合もそれぞれ、25.3% および 23.5% と、群間で偏りは認めなかったことから、マッチング結果は妥当と判断した。

次に、BVS 法で選択された 15 変数を予測因子

として式に組み入れた条件付きロジスティック回帰分析の結果を Figure 3 に示した。10 個の予測因子が心不全入院イベント発生と有意に関連した。予測因子の中でアウトカムと正の関連があったのは、既往疾患の心不全 (OR:1.79; CI:1.30-2.46)、心房細動 (OR:1.58; CI: 1.10-2.28)、虚血性心疾患 (OR:1.45; CI:1.07-1.97) と糖尿病性網膜症 (OR:1.58; CI:1.13-2.22)、処方歴から利尿薬 (OR:1.58; CI:1.17-2.14) と冠血管拡張薬 (OR:1.67; CI:1.21-2.25)、および血液検査の血清 BUN (OR:3.42; 1.04-11.24) であった。一方、負の関連を示したのは、既往疾患の脳血管疾患 (OR:0.65; CI:0.47-0.91) と高脂血症 (OR:0.73; CI:0.55-0.96)、および血液検査の血清総蛋白 (OR:0.24; 0.07-0.87) であった。特に利尿薬、冠血管拡張薬および心不全の既往に関しては、条件付きロジスティック回帰分析の結果に加えて、BVS 法による結果においても BF が 150 を超えていることから、これらの 3 つの予測因子と心不全入院との関連が頑強であった。

4. 考察

糖尿病の初回治療の開始時に患者の心不全のリスクを評価する予測因子を明らかにするため、患者の既往疾患や、処方歴、血液検査等の背景情報と心不全による入院との関連を推定し、心不全転帰と関連した 10 個の予測因子を明らかにした。糖尿病患者に焦点を当てた本研究の結果では、心房細動、過去の心不全、虚血性心疾患、および冠血管拡張薬の使用は心不全と有意に関連したが、この結果は心不全患者集団を対象にした先行研究の知見を支持するものであり、妥当と思われる。特に、糖尿病患者は冠動脈疾患を発症するリスクも高く、これにより心筋への血流と酸素供給が減少し、心不全のリスクが高まる⁶⁾。

利尿薬の使用も心不全と強く関連していた危険因子であるが、この結果は利尿薬の効能によるものではなく、中間因子の影響が考えられた。すなわち、利尿薬は心不全の予防や慢性腎臓病の治療に使用されることが多いため、これらの併存疾患が中間因子として結果に影響したと考えられた。これを支持するように、血中尿素窒素 (BUN) は心不全と有意な関連があった。糖尿病患者は慢性腎臓病を発症するリスクが高く、体液過剰や電解

質の不均衡を引き起こし、心不全を引き起こす可能性がある⁷⁾。一方、高血圧は心不全の主要な危険因子であり、ライフスタイルの変更と投薬によって高血圧を管理すると、心不全のリスクを大幅に軽減できることが知られているが¹⁾、本研究では、高血圧症、および降圧薬と心不全との関連は有意ではなかった。この違いを明らかにするためには、糖尿病患者の有無によって層別化した更なる研究が必要である。

糖尿病の進行度に関して、本研究では糖尿病網膜症が心不全の危険因子として見つけることができたが、他の糖尿病合併症やヘモグロビン A1c (HbA1c) と心不全との間で関連性を示す明確なエビデンスは認められなかった。その理由は、本研究の予測因子を糖尿病の初回治療時に限定したため、解析データが2型糖尿病の初期の患者に偏ったためと考えられた。

さらに、高脂血症と血清総蛋白の栄養に関連する要因が心不全のリスク低下と関連したことが注

目される。肥満等の過剰な体重はインスリン抵抗性の一因となり、糖尿病患者の血糖コントロールを悪化させるが、適切な栄養は健康な心臓を維持し、心不全を予防するために重要である。いくつかの研究では、総タンパク質、特にアルブミンのレベルが低いと心不全のリスク増加と関連していることが示されている⁸⁾。しかし、高脂血症が心不全のリスクを下げるという結果は、更なる議論が必要であり、レプリケートサンプルを用いた検証研究が必要である。

糖尿病患者の場合、心不全発症のリスクを軽減するために、高血圧の管理、血糖コントロール、冠動脈疾患や腎臓疾患の予防または治療を優先する場合がある。それには、個人の状況に当てはまるすべての危険因子に対処することが肝要である。患者個人の心不全のリスクを評価し、それらを管理するための個別の糖尿病治療計画を初めて作成する時に、治療開始時の予測因子の情報は十分に有益である。

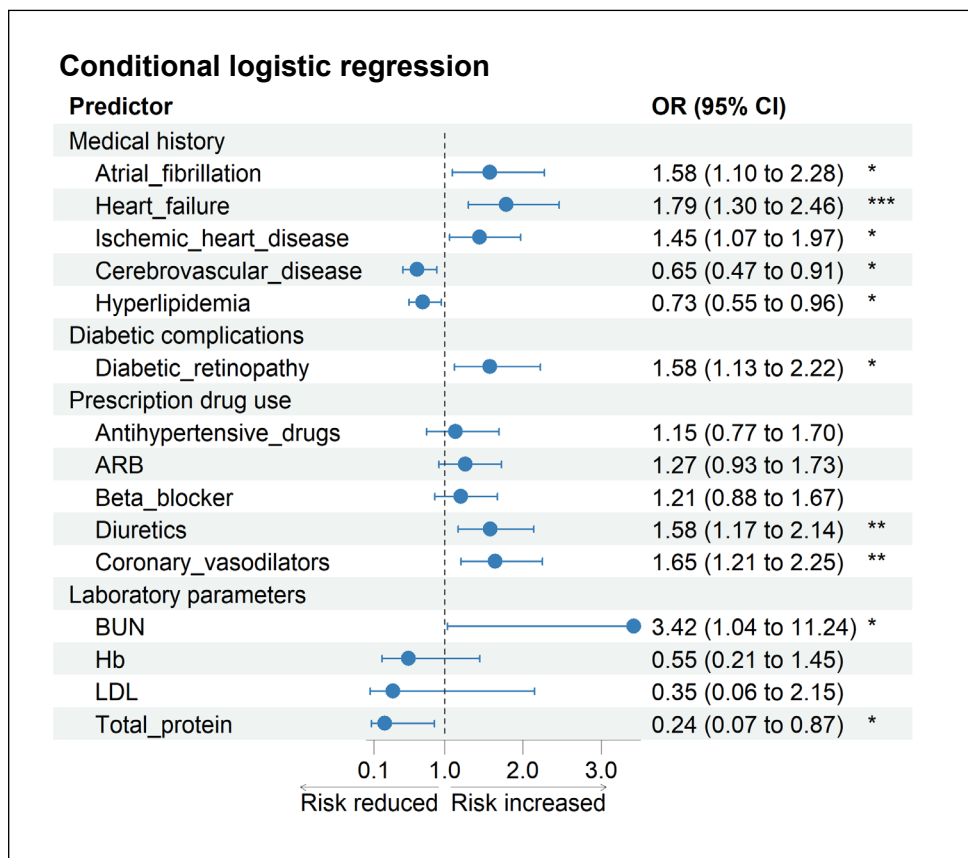


Figure 3. A forest plot of the conditional logistic regression analysis.

Abbreviations: OR, Odds ratio; CI, Confidence interval; ARB, angiotensin type II receptor blocker; BUN, blood urea nitrogen; Hb, Hemoglobin; LDL, low-density lipoprotein cholesterol; * p<0.05, ** P<0.005, *** P<0.005.

5. 結語

糖尿病の初回治療開始時において、患者の既往疾患や、処方歴、血液検査等の背景情報の中から、心不全による入院と関連がある予測因子として10個の要因を明らかにした。

6. 文献

- 1) Heidenreich, P.A. et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* 145, e895-e1032 (2022).
- 2) Takahashi, Y., Nishida, Y. & Asai, S. Utilization of health care databases for pharmacoepidemiology. *Eur J Clin Pharmacol* 68, 123-9 (2012).
- 3) Nagashima, T. et al. Identifying Antidepressants Less Likely to Cause Hyponatremia: Triangulation of Retrospective Cohort, Disproportionality, and Pharmacodynamic Studies. *Clin Pharmacol Ther* 111, 1258-1267 (2022).
- 4) Akimoto, H. et al. Detection of Synergistic Interaction on an Additive Scale Between Two Drugs on Abnormal Elevation of Serum Alanine Aminotransferase Using Machine-Learning Algorithms. *Front Pharmacol* 13, 910205 (2022).
- 5) <https://github.com/pjnewcombe/R2BGLiMS>
- 6) Nanayakkara N, Curtis AJ, Heritier S, et al. Impact of age at type 2 diabetes mellitus diagnosis on mortality and vascular complications: systematic review and meta-analyses. *Diabetologia*. 2021;64(2):275–287.
- 7) Banerjee, D., Rosano, G. & Herzog, C.A. Management of Heart Failure Patient with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 16, 1131-1139 (2021).
- 8) Gopal, D.M. et al. Serum albumin concentration and heart failure risk The Health, Aging, and Body Composition Study. *Am Heart J* 160, 279-85 (2010).

機械学習手法を用いた急性腎障害の潜在的な薬物間相互作用の探索

秋元勇人^{*)**)}, 早川 隆^{*)**)}, 長島卓也^{*)**)}, 皆川貴美乃^{**))},
高橋泰夫^{**))}, 浅井 聡^{*)**)}

Screening for potential drug-drug interactions for risk of acute kidney injury using a machine-learning algorithm

Hayato AKIMOTO^{*)**)}, Takashi HAYAKAWA^{*)**)}, Takuya NAGASHIMA^{*)**)},
Kimino MINAGAWA^{**))}, Yasuo TAKAHASHI^{**))}, Satoshi ASAI^{*)**)}

^{*)} 日本大学医学部生体機能医学系薬理学分野

^{**)} 日本大学医学部臨床試験研究センター

秋元勇人 : akimoto.hayato@nihon-u.ac.jp

要旨

薬剤性腎障害は薬物の副次的作用の 1 つである。腎臓は薬物の体内動態に大きく寄与することから、腎機能の低下は薬物の治療効果を修飾しうる。少子高齢化が進行している本邦において、薬物の多剤併用 (polypharmacy) 患者数に占める 65 歳以上の高齢者の割合はおおよそ 70% であることから、多くの高齢患者は腎障害リスクを有する薬物を複数種類併用していると考えられる。そこで本研究では機械学習アルゴリズムの 1 つである extreme gradient boosting decision tree を活用することにより、実臨床においてどの薬物の組み合わせが薬剤性腎障害の表現型の 1 つである急性腎障害の発症リスクを高めうるかを網羅的に探索することとした。

1. はじめに

急性腎障害 (AKI) は the Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) 2012 ガイドラインで定義されており、血清クレアチニン (SCr) 値をベースとして診断される¹⁾。これまで報告されてきた様々な臨床研究は単一の薬物 (e. g., アンピシリン) あるいは薬物クラス (e. g., β ラクタム系抗菌薬) に注目し、その AKI リスクを評価しており、様々な薬物が腎毒性を有することが示唆されてきた。しかしながら Onoue, H. らが 2010-2016 年にかけて実施した全国的な調査によれば²⁾、薬物の多剤併用 (5 剤以上; polypharmacy) を経験した患者の 69.0% は 65 歳以上の高齢者であることから、高齢患者への薬物治療中に意図せず腎障害リスクを有する複数の薬物が併用され、AKI の高いリスクに曝されているかもしれない。実際、海外では抗菌薬とプロトンポンプ阻害薬のような 2 つの薬物クラスの組み合わせが AKI の原因の 1 つである急性間質性腎炎のリ

スク因子であるとの報告がある³⁾。この報告以外にも AKI リスクを増加させる薬物の組み合わせに関する報告があり⁴⁾、どの薬物の組み合わせが AKI リスクに影響するか網羅的に調査することは有意義である。そこで本研究では AI 基盤技術の 1 つである機械学習および本学で集積されている臨床情報データベース (NUSM' s CDW) を用いて、AKI リスクを増加させうる薬物クラスの組み合わせを探索・評価することとした。

2. 対象及び方法

我々はまず、NUSM' s CDW から 2 週間で少なくとも 3 回以上 SCr を測定し、このうち初回および 2 回目の SCr の変動が 50% 未満であった患者情報を抽出した。2 回目の SCr 測定日をベースラインとして、3 回目に測定された SCr 値が次の 2 つの要件 (KDIGO に準拠) のどちらかを満たしていた患者を症例群 (N=7203) に割り当てた: 1) ベースライン

から 48 時間以内に SCr が 0.3 mg/dL 以上増加した患者, 2) 7 日以内に SCr がベースライン値の 1.5 倍以上増加した患者. 他方, 症例群に該当しなかった患者は対照群 (N=66813) に割り当てた. 機械学習に供する特徴変数として, 年齢や性別, 病院等の“患者基本情報”, 高血圧や糖尿病, 心不全, 貧血, 敗血症, 慢性腎臓病 (CKD; ステージ 2 以上) のような“診断歴情報”, 腎機能への影響が指摘されている 32 の薬物クラスの使用状況に関する“薬剤処方情報”を設定した. また, 2 種薬物間に AKI リスクを増加させる相互作用があるかを評価するために, この 32 の薬物クラスの使用状況の 2 次元交互作用項も特徴変数として扱った (全 452 変数). 機械学習の手法は extreme gradient boosting (XGBoost) decision tree model を選択し, 全 74016 名の患者情報を訓練デ

ータ (80%) とテストデータ (20%) に分割し, 訓練データを使用して XGBoost モデルを構築, テストデータを使用してモデルの評価を実施した. なお, XGBoost モデルは 10 分割交差検証法を利用して最適化された. すべての統計解析には R を利用し, 有意水準は 0.05 とした.

3. 結果

Table 1 に症例群および対照群の患者背景を示す. 患者背景を概観すると, AKI を発症した患者群は対照群と比較し高齢であり, 男性が多く, 診断歴も多く有していた (all $P < 0.001$). 32 の薬物クラスの使用状況については, 症例群では多くの薬物クラスが対照群よりも高い頻度で使用されていた.

Table 1. Patients' characteristics in case and control groups.

Characteristics	Case group (N=5,319)	Control group (N=60,348)	P value
Age (years), median (IQR)	69 (59-78)	65 (51-74)	<0.001
Male, n (%)	3,519 (66.2)	32,726 (54.2)	<0.001
Hospital, n (%)			<0.001
Itabashi	3,924 (73.8)	43,998 (72.9)	
Surugadai	884 (16.6)	9,284 (15.4)	
Hikarigaoka	511 (9.6)	7,066 (11.7)	
Medical history, n (%)			
Hypertension	1,379 (25.9)	8,544 (14.2)	<0.001
Diabetes	1,602 (30.1)	13,994 (23.2)	<0.001
Heart failure	1,079 (20.3)	4,830 (8.0)	<0.001
Anemia	746 (14.0)	5,858 (9.7)	<0.001
Sepsis	620 (11.7)	1,107 (1.8)	<0.001
Chronic kidney disease	72 (1.4)	244 (0.4)	<0.001
Chronic liver disease	109 (2.0)	625 (1.0)	<0.001
Use of therapeutic drug classes, n (%)			
Antibiotic drugs			
Penicillins	462 (8.7)	2,731 (4.5)	<0.001
Cephalosporins	500 (9.4)	8,144 (13.5)	<0.001
Carbapenems	161 (3.0)	349 (0.6)	<0.001
Aminoglycosides	37 (0.7)	37 (0.1)	<0.001
Glycopeptides	228 (4.3)	86 (0.1)	<0.001
Tetracyclines	13 (0.2)	87 (0.1)	0.107
Fluoroquinolones	105 (2.0)	844 (1.4)	0.001
Macrolides	97 (1.8)	591 (1.0)	<0.001
Sulfamethoxazole/trimethoprim	58 (1.1)	104 (0.2)	<0.001
Azoles	21 (0.4)	29 (0.0)	<0.001
Amphotericin B	15 (0.3)	12 (0.0)	<0.001
Anti-herpes virus drugs (nucleoside analogues)	20 (0.4)	175 (0.3)	0.330
Interferons	3 (0.1)	31 (0.1)	1.000
Antihypertensive drugs			
Calcium channel blockers	495 (9.3)	4,628 (7.7)	<0.001
ACE inhibitors	225 (4.2)	2,164 (3.6)	0.018

ARBs	104 (2.0)	519 (0.9)	<0.001
α -adrenergic receptor blockers	35 (0.7)	185 (0.3)	<0.001
β -adrenergic receptor blockers	107 (2.0)	584 (1.0)	<0.001
Loop diuretics	516 (9.7)	1,170 (1.9)	<0.001
Aldosterone antagonists	246 (4.6)	658 (1.1)	<0.001
Other diuretics	24 (0.5)	277 (0.5)	1.000
Antineoplastic drugs			
Folate antimetabolites	16 (0.3)	11 (0.0)	<0.001
Platinum-based agents	133 (2.5)	125 (0.2)	<0.001
Immunosuppressive drugs			
Calcineurin inhibitors	8 (0.2)	23 (0.0)	0.001
Sulfhydryl compounds (DMARDs)	1 (0.0)	27 (0.0)	0.595
Drugs for alimentary tract			
Histamine H ₂ receptor blockers	637 (12.0)	7,391 (12.2)	0.577
Proton pump inhibitors	680 (12.8)	4,382 (7.3)	<0.001
Drugs for dyslipidemia			
Statins	142 (2.7)	1,966 (3.3)	0.022
Fibrates	11 (0.2)	203 (0.3)	0.143
Others			
NSAIDs	706 (13.3)	9,491 (15.7)	<0.001
SGLT2 inhibitors	5 (0.1)	52 (0.1)	1.000
Vitamin D ₃ preparations	2 (0.0)	100 (0.2)	0.036
<hr/>			
Serum creatinine on event date (mg/dL), median (IQR)			
Male	1.7 (1.3-2.3)	0.8 (0.7-0.9)	<0.001
Female	1.3 (0.9-2.0)	0.6 (0.5-0.7)	<0.001

Since continuous data such as age and serum creatinine level were not normally distributed, Wilcoxon rank-sum test was performed for differences in the features. Chi-squared test was performed for categorical data. Abbreviations: DMARD, disease modifying anti-rheumatic drug; IQR, interquartile range; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug; SGLT2, sodium glucose cotransporter 2.

次に、構築された XGBoost モデルの各種評価指標について述べる。Model discrimination を反映する受信者動作特性曲線下面積(AUROC)や precision-recall 曲線下面積(AUPR)は、テストデータに対して、それぞれ 0.827 (95%信頼区間 0.814 to 0.840), 0.384 (0.352 to 0.414)であり、AUROC に関しては良好な値を示した。AUPR に関しては明確な評価基準は現状公表されていないものの、0.4 に近いことから model discrimination は良好であった。Model calibration については、calibration slope 0.884 (0.834 to 0.934), intercept -0.145 (-0.266 to -0.024) であり、

calibration slope が 1 を下回っていることから特徴変数を過大評価している傾向にあった。

Figure 1 に各特徴変数の SHapley Additive exPlanations (SHAP)値を示す。紫から黄色にかけての勾配は特徴変数の大きさを示しており、特徴変数が大きいと紫色で示される。また、SHAP 値が + 側に大きいことは AKI の発症に寄与することを示している。Figure 1 より、ループ利尿薬単独あるいはループ系利尿薬とヒスタミン H₂ 受容体遮断薬の組み合わせは AKI の発症に関与することが示された。

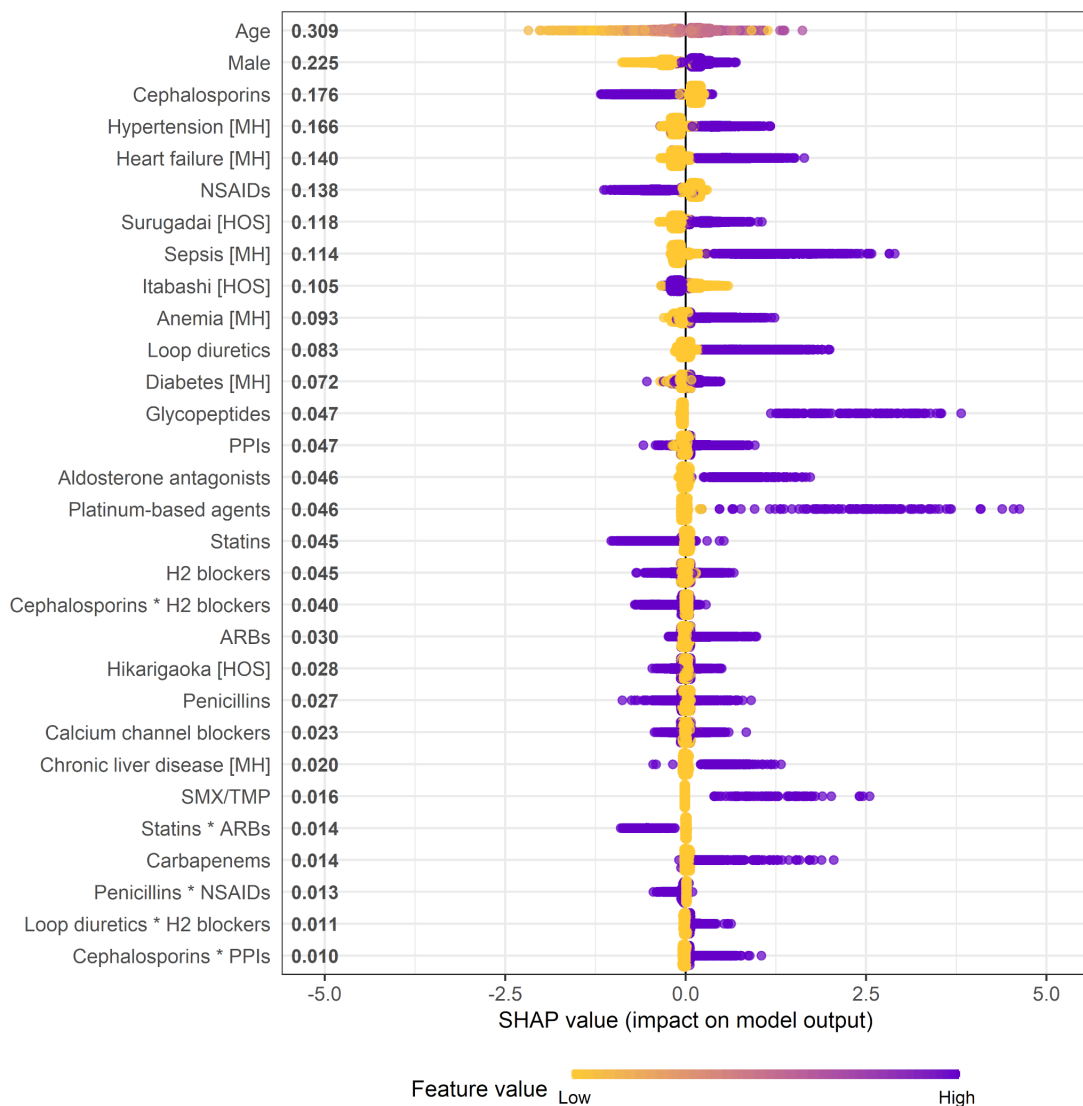


Figure 1. Effect of features on increased risk of AKI in XGB model (SHAP summary plot). * indicates product term of two drug classes. Abbreviations: ARB, angiotensin receptor blocker; H2 blocker, histamine H₂ receptor blocker; HOS, hospital; MH, medical history; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug; PPI, proton pump inhibitor; SHAP, SHapley Additive exPlanation; SMX/TMP, sulfamethoxazole/trimethoprim

4. 考察

本研究結果から、ループ利尿薬と H₂ 受容体遮断薬の組み合わせは AKI の発症リスクを増加させる可能性が示唆された。この現象を薬理学的メカニズムに則って考察する。ヒスタミン H₂ 受容体遮断薬はそれ単独でも急性間質性腎炎のリスク因子であることが知られており、有機アニオン輸送体(OATs)や有機カチオン輸送体(OCTs)で体外へ排泄される⁵⁾。しかしながら、ループ利尿薬は OATs の阻害作用を有することが報告されており⁶⁾、これらの併用は H₂ 遮断薬の血中濃度増加を招きうる。H₂ 遮断薬は OATs や OCTs を阻害する作用を有することが示されており⁷⁾、この 2 種薬物の併用は SCr の排泄輸送体である OATs や OCTs を阻害することにより SCr の急激な上昇が観察されたのかもしれない。

5. 結語

リアルワールドデータである患者の臨床情報と機械学習を組み合わせることで興味ある薬剤の副次的な作用のリスクを評価することは十分可能であり、本研究では AKI のリスクをより増大させるような薬物の組み合わせを検出することができた。

6. 謝辞

本研究は文部科学省(MEXT), 国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED), JSPS 科研費の助成を受けたものです: grant numbers JP18km0605001 and JP223fa627011, and JP22K15347.

7. 文献

- 1) Mehta, R.L., Awdishu, L., et al. Phenotype standardization for drug-induced kidney disease. *Kidney Int.* 2015; 88: 226-234.
- 2) Onoue, H., Koyama, T., et al. Trends in polypharmacy in Japan: a nationwide retrospective study. *J Am Geriatr Soc.* 2018; 66: 2267-2273.
- 3) Muriithi, A.K., Leung, N., et al. Clinical characteristics, causes and outcomes of acute interstitial nephritis in the elderly. *Kidney Int.* 2015; 87: 458-464.
- 4) Imai, S., Kadomura, S., et al. Using Japanese big data to investigate novel factors and their high-risk combinations that affect vancomycin-induced nephrotoxicity. *Br J Clin Pharmacol.* 2022; 88: 3241-3255.
- 5) Tahara, H., Kusuhara, H., et al. A species difference in the transport activities of H₂ receptor antagonists by rat and human renal organic anion and cation transporters. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 315: 337-345.
- 6) Gharibkandi, N.A., Molavipordanjani, S., et al. The influence of kidneys ion transport inhibitors on the pharmacokinetic and tumor uptake behaviors of a HER2-targeted small size radiolabeled peptide. *Curr Drug Metab.* 2022; 23: 82-87.
- 7) Nakada, T., Kudo, T., et al. Estimation of changes in serum creatinine and creatinine clearance caused by renal transporter inhibition in healthy subjects. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2019; 34: 233-238. Predicting drug-induced hepatotoxicity using QSAR and toxicogenomics approaches. *Chem Res Toxicol* 2011; 24: 1251-1262.

オランザピンによる脂質異常症に対するビタミン D 併用の有効性

長島卓也^{*)**)}, 早川隆^{*)**)}, 秋元勇人^{*)**)}, 皆川貴美乃^{**))},
高橋泰夫^{**))}, 浅井聰^{*)**)}

Vitamin D supplementation is effective for olanzapine-induced dyslipidemia

Takuya NAGASHIMA^{*)**)}, Takashi HAYAKAWA^{*)**)}, Hayato AKIMOTO^{*)**)},
Kimino MINAGAWA^{**))}, Yasuo TAKAHASHI^{**))}, Satoshi ASAI^{*)**)}

^{*)} 日本大学医学部生体機能医学系薬理学分野

^{**))} 日本大学医学部臨床試験研究センター

長島卓也 : nagashima.takuya@nihon-u.ac.jp

要旨

オランザピンは臨床で広く用いられている抗精神病薬であるが、副作用として脂質異常症を引き起こすという問題がある。本研究では、日本大学病院の電子カルテデータベースを解析し、オランザピンが血中脂質プロファイルに与える影響と、それに対するビタミン D の併用効果を検討した。オランザピンを投与された患者では、血中トリグリセリド値及び血中 LDL コレステロール値の有意な増加と、血中 HDL コレステロール値の有意な減少が認められた。一方で、ビタミン D 併用患者では、オランザピン投与に伴う血中脂質プロファイルの悪化は認められなかった。以上の結果から、オランザピンによる脂質異常症に対し、ビタミン D の併用が有効である可能性が示唆された。

1. はじめに

統合失調症は、幻覚、妄想、意欲の低下、感情の鈍化を特徴とする慢性的な精神疾患である。現在では、錐体外路症状を引き起こさずに陽性症状を改善できる非定型抗精神病薬が、統合失調症治療における第一選択薬として用いられている。その中でも、オランザピンは臨床で広く用いられている代表的な非定型抗精神病薬である。しかしながら、オランザピンには、副作用として脂質異常症を引き起こすという問題がある。脂質異常症は心血管障害のリスク因子であることから、オランザピンによる脂質異常症の対策を確立することは臨床上重要な課題である。近年発表されたメタ解析論文によると、抗精神病薬による脂質異常症に対しては、既存の脂質異常症治療薬では十分な効果が得られないと結論付けられている。そのため、オランザピンによる脂質異常症に対しては、既存の脂質異常症治療薬とは異なる新たな治療戦略が求められている。

筆者は、本研究に先立ち、米国 FDA の有害事象報告システム (FAERS) を解析し、オランザピンによる脂質異常症がビタミン D を併用することで予防できるという可能性を見出した。しかしながら、FAERS の解析には報告バイアスの影響を受けやすいという欠点があるため、この仮説を裏付けるには更なるエビデンスを追加する必要があると考えられた。そこで本研究では、日本大学病院の電子カルテデータベースを解析し、オランザピンが血中脂質プロファイルに与える影響と、それに対するビタミン D の併用効果を検討した。

2. 対象及び方法

本研究は、日本大学臨床データウェアハウス (Nihon University School of Medicine ' s Clinical Data Warehouse; NUSM' s CDW) を用いた後方視的コホート研究である。このデータベースには、日本大学に属する 3 病院のいずれかに来院

した患者の基本情報、診断情報、処方薬情報、検査情報が格納されている。今回の研究では、2004年11月から2020年7月までの間にオランザピンを投与された入院・外来患者を対象とした。このうち、オランザピン治療開始前にビタミンDを処方されていた患者をビタミンD併用患者と定義した。また、オランザピン治療開始前の12ヶ月間を処方前期間、開始後の12ヶ月間を処方後期間と定義し、処方後期間を更に0~3ヶ月、3~6ヶ月、6~9ヶ月、9~12ヶ月の4つに分割した。この処方前期間と処方後期間から、アウトカムとしてトリグリセリド、LDLコレステロール、HDLコレステロールの血液検査結果を抽出した。投与前の値(Month 0)には、オランザピン治療開始日に最も近い時点の測定値を採用した。投与後の各時点の値(Months 3, 6, 9, 12)には、該当する月の終わりに最も近い時点の測定値を採用した。欠測値はLast Observation Carried Forward法を用いて補

完した。その他、オランザピン治療開始時における患者特性として、年齢、性別、統合失調症の診断歴、オランザピン以外の抗精神病薬の処方歴、血糖値、HbA1c値を抽出した。患者特性の比較には、連続変数に対してWelchのt検定を、カテゴリ変数に対してFisherの直接確率検定を用いた。反復測定データの解析には、混合効果モデルを用いた。p<0.05を統計学的に有意と判定した。本研究は日本大学医学部倫理委員会の承認を得た上で実施した(承認番号:31-10-0)。

3. 結果

表1に、本研究で対象としたオランザピン投与患者の特性を示す。ビタミンD併用患者とビタミンD非併用患者の間で、患者特性に有意な差は認められなかった。

表1 オランザピン投与患者の特性

	With vitamin D (n = 23)	Without vitamin D (n = 406)	p value
Age (years)	57.1 ± 4.3	48.5 ± 0.9	0.06
Female	18 (78.3%)	249 (61.3%)	0.12
Schizophrenia	5 (21.7%)	110 (27.1%)	0.81
Antipsychotics	12 (52.2%)	225 (55.4%)	0.83
Blood glucose (mg/dL)	103.2 ± 4.7	107.6 ± 1.4	0.38
HbA1c (%)	5.55 ± 0.10	5.46 ± 0.04	0.39
Triglyceride (mg/dL)	135.2 ± 12.5	120.8 ± 4.6	0.29
LDL cholesterol (mg/dL)	125.5 ± 9.1	113.1 ± 2.9	0.21
HDL cholesterol (mg/dL)	52.9 ± 5.1	55.1 ± 1.0	0.67

連続変数は平均値±標準誤差で、カテゴリ変数は人数(%)で示している。

図1に、オランザピンの投与が血中トリグリセリド値に与える影響を示す。オランザピン投与開始から6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後の時点において、血中トリグリセリド値の有意な増加が認められた。血中トリグリセリド値は投与期間の延長に伴い単調増加し、オランザピン投与開始から12ヶ月後における増加幅は54 mg/dLであった。一方で、ビタミンD併用患者では、オランザピン投与に伴う血中トリグリセリド値の増加は認められなかった。

図2に、オランザピンの投与が血中LDLコレステロール値に与える影響を示す。オランザピン投与開始から12ヶ月後の時点において、血中LDLコレステロール値の有意な増加が認められた。血中LDLコレステロール値は投与期間の延長に伴い単

調増加し、オランザピン投与開始から12ヶ月後における増加幅は15 mg/dLであった。一方で、ビタミンD併用患者では、オランザピン投与に伴う血中LDLコレステロール値の増加は認められなかった。

図3に、オランザピンの投与が血中HDLコレステロール値に与える影響を示す。オランザピン投与開始から6ヶ月後と9ヶ月後の時点において、血中HDLコレステロール値の有意な減少が認められた。血中HDLコレステロール値の変化は一過性のものであり、オランザピン投与開始から6ヶ月後において5 mg/dL減少した後、徐々に回復していく傾向が認められた。一方で、ビタミンD併用患者では、オランザピン投与に伴う血中HDLコレステロール値の減少は認められなかった。

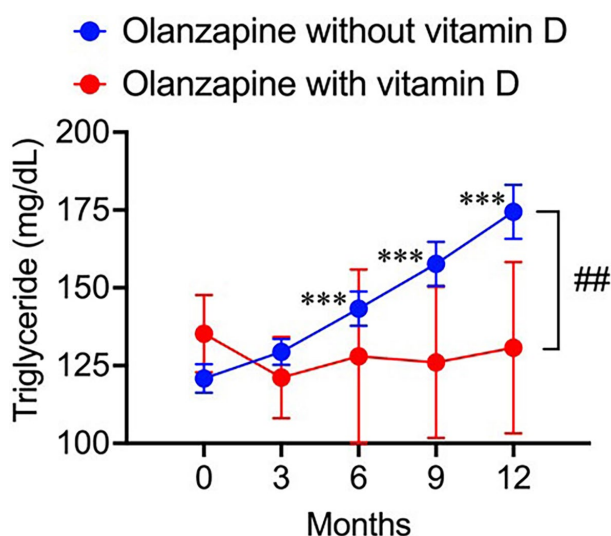


図1 オランザピンの投与が血中トリグリセリド値に与える影響

データは平均値±標準誤差で示している。***p < 0.001 vs. Month 0. ##p < 0.01。

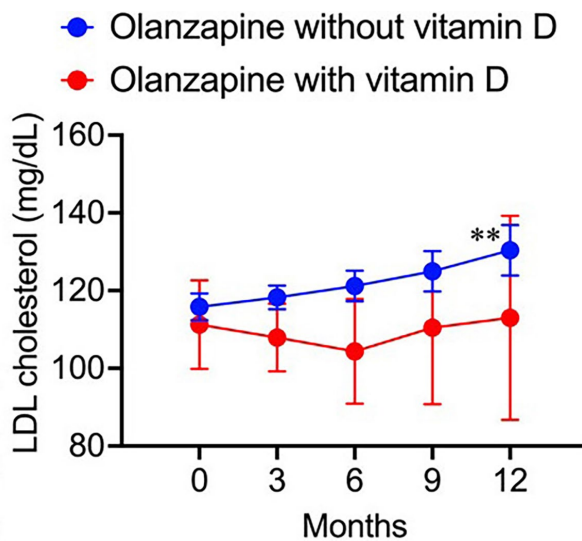


図2 オランザピンの投与が血中 LDL コレステロール値に与える影響

データは平均値±標準誤差で示している。**p < 0.01 vs. Month 0。

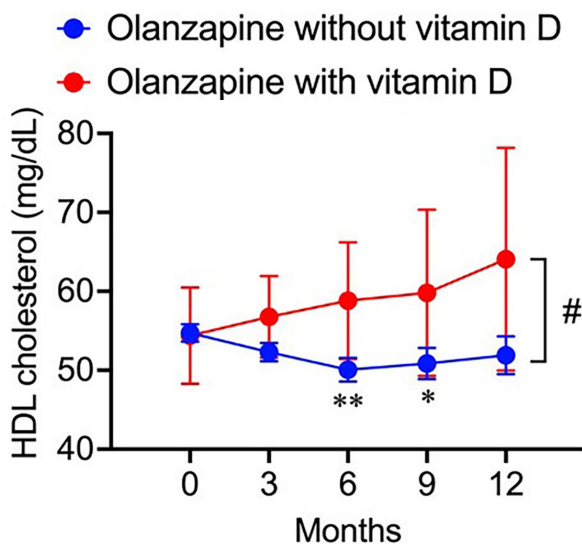


図3 オランザピンの投与が血中 HDL コレステロール値に与える影響

データは平均値±標準誤差で示している。*p < 0.05, **p < 0.01 vs. Month 0。#p < 0.05。

4. 考察

本研究では、日本大学病院の電子カルテデータベースを解析することで、オランザピンが血中脂質プロファイルに与える影響と、それに対するビタミン D の併用効果を検討した。オランザピンを投与された患者では、血中トリグリセリド値及び血中 LDL コレステロール値の有意な増加と、血中 HDL コレステロール値の有意な減少が認められた。これらの変化は脂質異常症の特徴に一致しており、オランザピンが脂質異常症を引き起こすという従来の知見が本研究においても確認された。一方で、ビタミン D 併用患者では、オランザピン投与に伴う血中脂質プロファイルの悪化は認められなかった。このことから、オランザピンによる脂質異常症に対し、ビタミン D の併用が有効である可能性が示唆された。

本稿では NUSM' s CDW の解析のみを扱ったが、研究全体としては他に、FAERS と JMDC Claims Database の解析も実施した。最初に実施した FAERS の解析では、オランザピンの使用と脂質異常症の報告との間に有意な相関を確認し、この副作用を予防できる併用薬の筆頭としてビタミン D を見出した。続く JMDC Claims Database の解析では、オランザピン投与に伴う血中脂質プロファイルの悪化がビタミン D 併用患者では認められないという、NUSM' s CDW の解析に一致する結果が得

られた。このような、複数の独立した臨床ビッグデータを用いた交差検証は、より信頼できる仮説を生成する上で有用な戦略であると考えられた。

今回の研究では更に、この仮説を検証するため、動物・細胞を用いた薬理学的実験を追加した。マウスを用いた *in vivo* 実験においても、オランザピン投与に伴う血中脂質プロファイルの悪化と、ビタミン D の併用によるその改善が認められ、臨床ビッグデータ解析で得られた仮説に一致する結果が確認された。また、脂質代謝に関連する各種細胞を用いた *in vitro* 実験により、この仮説の分子メカニズムを探索したところ、ビタミン D 受容体を介した Insig2 遺伝子発現の亢進が関与している可能性が示唆された。このように、臨床ビッグデータ解析と薬理学的実験を組み合わせることで、新たな治療法の探索のみならず、新たな創薬標的の探索も可能になると考えられた。

5. 結語

本研究により、ビタミン D の併用が、オランザピンによる脂質異常症に対して有効である可能性が示唆された。本研究の知見は、現代の臨床における抗精神病薬療法の改善に有用であるのみならず、将来の創薬における新たな脂質異常症治療薬の開発にも有用であると期待できる。

6. 文献

- 1) Zhou Z, Nagashima T, Toda C, et al. Vitamin D supplementation is effective for olanzapine-induced dyslipidemia. *Front Pharmacol* 2023; 14:1135516.

ベンゾジアゼピン系薬物使用に関連する認知症発症リスク及び因果逆転バイアスの 日本大学医学部臨床情報統合データベースを用いた機械学習解析

早川隆^{*)**)}, 長島卓也^{*)**)}, 秋元勇人^{*)**)},
皆川貴美乃^{**)*)}, 高橋泰夫^{**)*)}, 浅井聡^{*)**)}

Risk of dementia onset and protopathic biases associated with use of benzodiazepines revealed by machine learning with NUSM's CDW

Takashi HAYAKAWA^{*)**)}, Takuya NAGASHIMA^{*)**)}, Hayato AKIMOTO^{*)**)},
Kimino MINAGAWA^{**)*)}, Yasuo TAKAHASHI^{**)*)}, Satoshi ASAI^{*)**)}

^{*)} 日本大学医学部生体機能医学系薬理学分野

^{**)} 日本大学医学部臨床試験研究センター

早川隆 : hayakawa.takashi@nihon-u.ac.jp

要旨

ベンゾジアゼピン系薬物(BZD)の使用と認知症発症リスクの関連の有無について、相反する結果が報告されてきた。この状況を解決する目的で、日本大学医学部臨床情報統合データベースから抽出した新規発症の不眠症・不安障害・感情障害患者 8160 人の臨床情報を、マルチカーネル法と呼ばれる機械学習手法を用いて解析を行った。解析結果から、不眠症・不安障害に関連する逆因果バイアス、短時間作用型 BZD の短期効果による交絡バイアスが従来想定されていたよりも長期にわたって影響を及ぼし先行研究結果の再解釈が必要であることが示唆される一方、BZD の長期効果としての認知症発症リスクの有意な上昇は認められなかった。

1. 序論

これまでベンゾジアゼピン系薬物の長期使用による認知症発症リスクの有意な上昇が相次いで報告される一方¹⁻¹⁴⁾、最近の大規模観察研究で相反する結果が報告されてきた¹³⁻¹⁵⁾。問題を難しくしている一因に、ベンゾジアゼピン系薬物(BZD)の適応を持つ不眠症・不安障害・感情障害は認知症の前駆症状として知られているため、BZD 使用に関連するリスクなのか、前駆症状に関連するリスクなのか区別がつかないことがある。

筆者らは機械学習手法を用いて従来の医学統計手法の精度を超えて解析を行うことでこの問題を解決できるとの考えから、日本大学医学部臨床情報統合データベース(NUSM's CDW)から抽出した後ろ向きコホートのデータセットに、筆者ら自身が開発し昨年度紀要¹⁶⁾で報告したマルチカーネル

法に基づく機械学習プログラムを適用し、その結果を論文報告した¹⁷⁾。以下ではこの論文報告の内容を日本語で要約し紹介する。詳細は元論文を参照していただきたい。

2. 方法

2-1. 後ろ向きコホートの抽出

2004年11月1日から2020年7月31日の間のデータベースの全ての患者記録から、40歳の誕生日以降に2年以上通院し120日未満の間隔で薬剤処方を受けた患者を抽出した。そして最初の記録から180日目と40歳の誕生日の遅い方以降に不眠症・不安障害・感情障害を新規発症した患者をさらに抽出した。最初の記録から180日あるいは40歳の誕生日までの期間の長い方において認知症ま

たは認知機能に重大な影響を与える疾患の記録がある患者は除外した。抽出された患者は認知症を

発症するか通院をやめるか 2020 年 7 月 31 日に達するまで観察した。

図 1

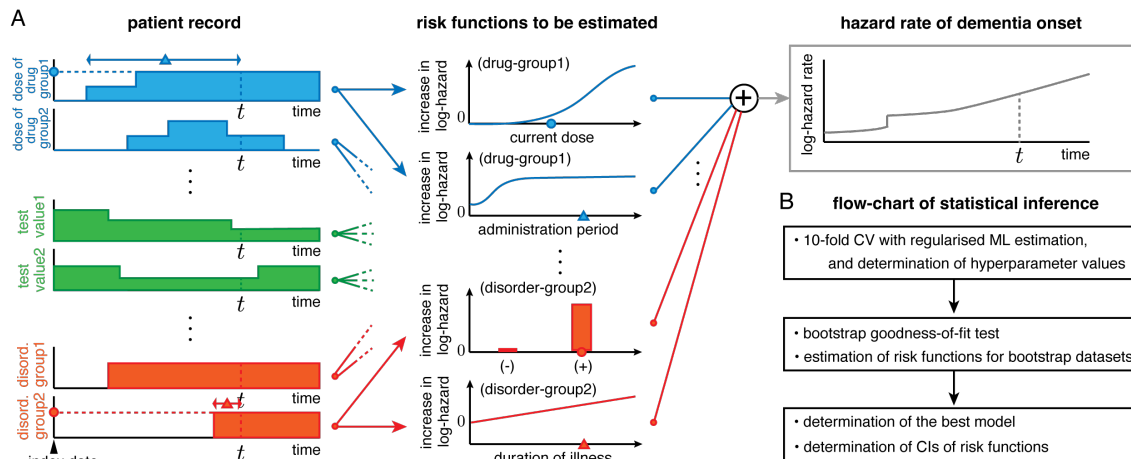


図 1. A 統計モデルのグランドデザイン。対数ハザードが説明変数それぞれの線形または非線形の関数の和として表される。B 統計解析手順を示すフローチャート。[元論文から転載]

2-2. 統計モデルのデザイン

本研究では昨年度紀要¹⁶⁾にて解説した、マルチカーネル法に基づくハザードモデルを用いて解析を行った。このモデルでは図 1A のように、薬物群の累積投与量、疾患群の罹患期間等の各要因の関数として対数ハザード比が決まり(これを”リスク関数”と呼ぶ)、これらを全て掛け算したものととして認知症発症のハザードレートが決まる。なおアウトカムとして全認知症・アルツハイマー型認知症の両方を考える。リスク関数はカーネル関数によって定まる再生核ヒルベルト空間の元として定義され、正則化付きの最尤推定を行うことによりデータから統計的に推定される。正則化は先行研究に従い²²⁾、ヒルベルト空間の定めるノルムに基づく 1-ノルムまたは 2-ノルム Tikhonov 型正則化を用いた。このように複数のカーネルに対応する複数の非線形関数を用いる統計解析はマルチカーネル法¹⁸⁾と呼ばれる。この枠組みでは、データを十分に用意し適切な正則化を行うことで、推定されるリスク関数を真の関数にいくらかでも近づけられる¹⁹⁻²²⁾。

このようにモデルを設定することで、どの要因がどのように認知症発症に貢献しているかを可視化

できるわけだが、具体的には次の 4 つのモデルを設計してリスク変動と各要因の関係を調べた：[linear model] 従来の疫学研究で用いられていたモデルと概ね同じ説明変数を用い、その線形関数で対数ハザードを表したもの；[MKL-1] linear model で用いたリスク関数に加え、BZD の累積投与量の非線形リスク関数を加えたモデル；[MKL-2] MKL-1 に加えて BZD の投与期間や現投与量・前駆症状の罹患期間・抗うつ薬の投与期間の非線形リスク関数を加えたモデル；[MKL-3] MKL-2 に加えてデータベースから抽出できる限りなるべく多くのリスク関数を加えたモデル。

2-2. 統計解析の手順

図 1B のフローチャートに従って統計解析を進めた。まず 10-分割交差検証法に基づき、各モデルについて正則化定数・カーネルバンドパラメータなどのモデルのハイパーパラメータの最適値を決定した。次に、最適なハイパーパラメータ値を設定したモデル間のテストデータへの適合度の比較をブートストラップ検定によって調べることで行った。最後に、さらに別のブートストラップデータを生成し、リスク関数の信頼区間を推定した。

3. 結果

図2のように、モデルの適合度は MKL-2 が linear-model・MKL-1 を大きく上回り、MKL-3 は全認知症発症をアウトカムとし 1-ノルム正則化を用いた場合のみ MKL-2 を大きく上回った。一方、MKL-1 は linear-model よりも適合度が

低い傾向にあり、BZD の累積投与量が認知症発症予測にあまり有用ではなく、むしろ BZD・抗うつ薬の使用期間や前駆症状である睡眠障害・不安障害・感情障害の罹患期間などの方が有用であることが示唆された。

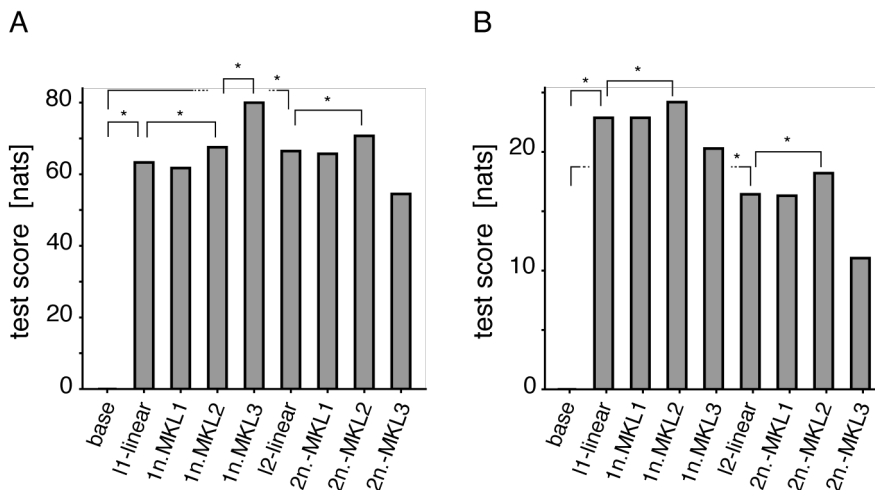


図2. 1-ノルムまたは2-ノルム正則化を用いてリスク推定を行った際の各モデルの適合度[元論文から転載]。年齢・性別・BMI・日付のみに基づき正則化なしでリスク推定を行う base model の適合度を基準とした。A 全認知症発症をアウトカムとした場合。B アルツハイマー型認知症のみをアウトカムとした場合。

この仮説を確かめるために、MKL-1~3 を用いて推定されたリスク関数の一部とその信頼区間をグラフに可視化して表示したものが図3である。図3Aのように MKL-1 では短時間作用型 BZD の累積投与量に関連して認知症発症リスクが有意な変動を示している。このパターンは実は先行研究で MKL-1 と似たハザードモデルをスプライン関数を用いて解析した結果と非常によく合致している¹¹⁾。

一方、図3Bに示すように、全認知症発症をアウトカムとして MKL-2 を用いた解析では、累積投与量と認知症発症リスクの関連は減少しており、特に1-ノルム正則化を用いた場合には72%のケースで関連は0と推定された。一方で、短時間作用型 BZD の投与期間・不眠症及び不安障害の罹患期

間とは有意な関連が検出され、BZD 投与期間・不安障害罹患期間のリスク関数は特徴的な二相性を示した。このように明確にリスク変動が検出される中で、BZD の長期投与に伴い認知症発症リスクが上昇する傾向は全く検出されなかった。アルツハイマー型認知症をアウトカムとした場合も同様の傾向が見られた(図3C)。

短時間作用型 BZD の投与期間・不眠症及び不安障害の罹患期間と関連する認知症発症のリスク変動は、リスク関数を MKL-2 の59個から810個に大幅に増やした MKL-3 でも、同じパターンで変わらず観察され(図3D)、MKL-3 で推定されるリスク関数の中でも影響力の強い要因として推定された(短時間作用型 BZD: 3位, 不安障害: 12位, 不眠症: 33位)。

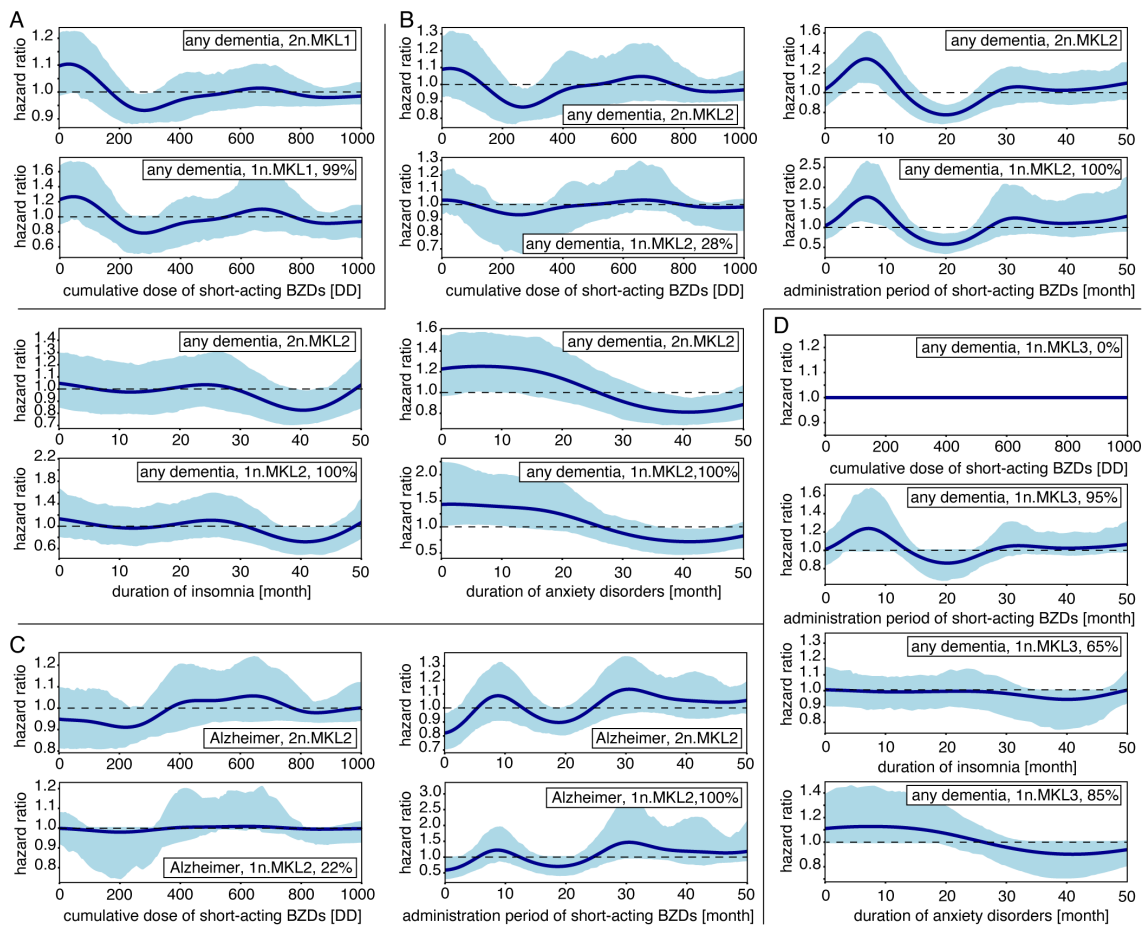


図 3. MKL1-3 を用いて推定した非線形リスク関数[元論文から転載]。各パネル内にアウトカムのタイプ(全認知症またはアルツハイマー型認知症)、用いたモデル、用いた正則化法を表示した。1-ノルム正則化を用いたケースでは、ブートストラップによる信頼区間の推定時に何%で非ゼロリスク関数が推定されたかも表示した。[略号] 1/2n: 1/2-ノルム正則化 DD: defined daily dose

4. 考察

以上のように BZD の累積投与に関連する認知症発症リスクの上昇トレンドは見られず、むしろ短時間作用型 BZD の投与期間・不眠症及び不安障害の罹患期間に明確に相関するリスク変動が見られることが示された。後者は以下のように解釈できる。まず、短時間作用型 BZD を使用すると、その短期の可逆的な認知機能低下効果により潜在的に認知症が進行していた患者が認知症であると診断される。しかし時間とともにそのような患者は全て診断されてしまい、残った患者はむしろリスクが低くなる。言い換えれば短時間作用型 BZD が認知症診断の負荷試験の役割を果たしている。一方

で、不眠症及び不安障害の罹患期間に関連するリスク変動は因果逆転バイアスを表していると考えられる。不安障害を発症した後 2 年間は、不安障害が認知症の前駆症状であった場合に認知症が実際に発症する期間となっていてリスクが高まるが、その期間を過ぎた患者はむしろリスクが低いことが示されたことになる。不眠症の罹患期間と関連するリスクについてはリスク関数形の解釈が少々難しいが、リスク変動が負のピークに至るタイミングが不安障害の場合と同じであることから、やはり因果逆転バイアスを表していると考えられる。なぜ正のピークが見られないかについては、不眠

症の場合に短時間作用型 BZD が使用される確率が非常に高く、二つの要因の共線性が強くなり、不眠症発症後のリスク上昇が上書きされてしまっている可能性が考えやすい。

このように、短時間作用型 BZD の短期効果による交絡バイアスと不眠症・不安障害の罹患期間に関連する因果逆転バイアスが 2 年～4 年に渡って存在するという解釈を元に見直してみると、先行研究の結果に似たようなバイアスが含まれていたのではないかという疑念が浮かんでくる。BZD 長期投与による認知症リスク上昇を検出した台湾の後ろ向き研究⁶⁾では、不眠症発症後 3 年間認知症発症が観察されたが、この結果には短時間作用型 BZD の短期効果と不眠症発症による因果逆転バイアスの効果が含まれている可能性が高い。また、PAQUID study と呼ばれるフランスの前向き研究⁷⁾では、BZD の新規使用者を対象に 2-3 年おきの時点で逐次的に解析を行っており、短時間作用型 BZD と不眠症に関連するバイアスが含まれやすいデザインである。さらに、この研究では不安障害の発症情報が不明のため、BZD 使用と不安障害発症の隠れた相関がバイアスを生み出している可能性も懸念される。デンマークの最近の後ろ向き大規模研究は新規発症の感情障害患者を対象としており¹⁴⁾、対象患者は同時に不安症状も併発してい

る可能性が高く、この研究で因果逆転バイアスを軽減するために取られている観察開始前の 2 年のラグは十分でない可能性が懸念される。

5. 結語

マルチカーネル法を用いた機械学習手法によって従来の医学統計手法では扱えなかった複数の要因に非線形に相関するリスク変動を解析したところ、BZD の長期投与に関連する認知症発症リスクの上昇は見られず、むしろ短時間作用型 BZD の短期効果による交絡バイアス、及び不眠症・不安障害の罹患期間に関連する因果逆転バイアスが 2～4 年の期間にわたって疑われる結果となり、先行研究の結果を再解釈する必要性が提案された。本研究結果は大学病院の電子カルテの後ろ向きの解析であるためエビデンスのレベルは低く、直ちに臨床現場への提言に結びつく性質のものではない。しかしながら、これらのバイアス効果は非常に明確に検出されており、将来の臨床研究をデザインする上で考慮する必要がある。今後、同様の機械学習手法が将来の前向き研究で解析に用いられ、相反する結果が報告される現状が改善し、臨床的提言につながるエビデンスが導かれることが期待される。

6. 文献

- 1) Lagnaoui R, Bégaud B, Moore N et al. Benzodiazepine use and risk of dementia: a nested case-control study. *J Clin Epidemiol* 2002; 55: 314-318.
- 2) Lagnaoui R, Tournier M, Moride Y et al. The risk of cognitive impairment in older community-dwelling women after benzodiazepine use. *Age Ageing* 2009; 38: 226-228.
- 3) Wu CS, Wang SC, Chang IS et al. The association between dementia and long-term use of benzodiazepine in the elderly: nested case-control study using claims data. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009; 17: 614-620.
- 4) Wu CS, Ting TT, Wang SC et al. Effect of benzodiazepine discontinuation on dementia risk. *Am J Geriatr Psychiatry* 2011; 19: 151-159.
- 5) Gallacher J, Elwood P, Pickering J et al. Benzodiazepine use and risk of dementia: evidence from the caerphilly prospective study (caps). *J Epidemiol Community Health* 2012; 66: 869-873.
- 6) Chen PL, Lee WJ, Sun WZ et al. Risk of dementia in patients with insomnia and long-term use of hypnotics: a population-based retrospective cohort study. *PLoS ONE* 2012; 7: e49113.
- 7) de Gage SB, Bégaud B, Bazin F et al. Benzodiazepine use and risk of dementia: prospective population based study. *BMJ* 2012; 345: e6231.
- 8) de Gage SB, Moride Y, Ducruet T et al. Benzodiazepine use and risk of Alzheimer's disease: case-control study. *BMJ* 2014; 349: g5205.

- 9) Imfeld P, Bodmer M, Jick SS et al. Benzodiazepine use and risk of developing Alzheimer's disease or vascular dementia: a case-control analysis. *Drug Saf* 2015; 38: 909–919.
- 10) Shash D, Kurth T, Bertrand M et al. Benzodiazepine, psycho-tropic medication, and dementia: A population-based cohort study. *Alzheimers Dement* 2016; 12: 604–613.
- 11) Gray SL, Dublin S, Yu O et al. Benzodiazepine use and risk of incident dementia or cognitive decline: prospective population based study. *BMJ* 2016; 352: i90.
- 12) Biétry FA, Pfeil AM, Reich O et al. Benzodiazepine use and risk of developing Alzheimer's disease: a case-control study based on swiss claims data. *CNS Drugs* 2017; 31: 245–251.
- 13) Nafti M, Sirois C, Kröger E et al. Is benzodiazepine use associated with the risk of dementia and cognitive impairment— not dementia in older persons? The Canadian study of health and aging. *Ann Pharmacother* 2020; 54: 219–225.
- 14) Osler M and Jørgensen MB. Associations of benzodiazepines, z-drugs, and other anxiolytics with subsequent dementia in patients with affective disorders: a nationwide cohort and nested case-control study. *Am J Psychiat* 2020; 177: 497–505.
- 15) Richardson K, Mattishent K, Loke YK et al. History of benzodiazepine prescriptions and risk of dementia: possible bias due to prevalent users and covariate measurement timing in a nested case-control study. *Am J Epidemiol* 2019; 188: 1228–1236.
- 16) 早川 隆 他, 「日本大学医学部臨床情報統合データベースに基づき疾患リスク解析を行う機械学習パイプラインの構築」 令和4年度日本大学医学部 臨床試験研究センター紀要
- 17) Hayakawa T, Nagashima T, Akimoto H, Minagawa K, Takahashi Y, Asai S. Benzodiazepine-related dementia risks and protopathic biases revealed by multiple-kernel learning with electronic medical records. *DIGITAL HEALTH*. 2023;9: 1-23.
- 18) Lanckriet GR, Cristianini N, Bartlett P et al. Learning the kernel matrix with semidefinite programming. *J Mach Learn Res* 2004; 5: 27–72.
- 19) Bach FR. Consistency of the group Lasso and multiple kernel learning. *J Mach Learn Res* 2008; 9: 1179–1225.
- 20) Meier L, Van de Geer S and Bühlmann P. High-dimensional additive modeling. *Ann Stat* 2009; 37: 3779–3821.
- 21) Koltchinskii V and Yuan M. Sparsity in multiple kernel learning. *Ann Stat* 2010; 38: 3660–3695.
- 22) Suzuki T and Sugiyama M. Fast learning rate of multiple kernel learning: trade-off between sparsity and smoothness. *Ann Stat* 2013; 41: 1381–1405.

DLGAP1 ノックアウトマウスにおける過剰グルーミング行動

皆川貴美乃^{*)}, 早川隆^{*)**)}, 秋元勇人^{*)**)}, 長島卓也^{*)**)},
高橋泰夫^{*)}, 浅井聰^{*)**)}

Excessive self-grooming behavior in *DLGAP1* knockout mice

Kimino MINAGAWA^{*)}, Takashi HAYAKAWA^{*)**)}, Hayato AKIMITO^{*)**)},
Takuya NAGASHIMA^{*)**)}, Yasuo TAKAHASHI^{*)}, Satoshi ASAI^{*)**)}

^{*)} 日本大学医学部臨床試験研究センター

^{**)} 日本大学医学部生体機能医学系薬理学分野

皆川貴美乃 : minagawa.kimino@nihon-u.ac.jp

要旨

Discs large associated protein (DLGAP) は、神経シナプスを構成する足場タンパク質であり、精神・神経疾患の病態に関与することが報告されている。本研究では、DLGAP1 の機能を検討するために *DLGAP1* ノックアウト (DLGAP1 KO) マウスを作製し、表現型解析を行った。その結果、過度の自己グルーミング行動による脱毛や皮膚創傷が見られた。

1. はじめに

精神・神経疾患は、単一遺伝子の変異に基づく疾患とは異なり、環境因子とともに多因子性を示すことからその病態発症機序は複雑である。認知機能障害や反復行動など不均一な行動表現型を示す精神・神経疾患の原因として、シナプス構成成分のゲノム変異が多数報告されている^{1), 2)}。

Discs large associated protein (DLGAP) は、シナプス後肥厚 (postsynaptic density: PSD) を構成する足場タンパク質であり、脳内で高発現する DLGAP1~4 は統合失調症や強迫性障害などの様々な精神・神経疾患に関与することが報告されている^{3), 4)}。SHIRPA 法を用いた予備的行動観察では、DLGAP1 KO マウス (2ヶ月齢) の脱糞数増加が見られ、恐怖関連行動を示す可能性が示された。また、3~4ヶ月齢の DLGAP1 KO マウスで脱毛や皮膚創傷が見られたことから、本研究では DLGAP1 KO マウスの長期的観察を行い脱毛や皮膚創傷の発生率を検討し、ホームケージ内でのグルーミング行動の観察を行った。

2. 対象及び方法

実験動物

C57BL/6N を遺伝的背景とする *DLGAP1* 遺伝子欠損 (DLGAP1 KO) マウスは、Cyagen 社から購入した。ヘテロ接合型マウス同士の交配で得られた、雌雄の DLGAP1 野生型、ヘテロ接合型、ホモ接合型マウスを使用した。実験動物の取り扱い、日本大学医学部実験指針と日本大学動物実験マニュアルを遵守し、日本大学実験動物委員会により承認された実験課題 (承認番号: AP20MED064-3, AP22MED042-3) として行った。日本大学医学部実験動物施設内において、恒温 23±2 度、恒湿 55±5%、明暗サイクルを 12 時間 (8:00~20:00) とし、自由飲水摂食下にて飼育した。

ホームケージ内での 24 時間行動観察

生後 5~10 ヶ月の DLGAP1 野生型、ヘテロ接合型、ホモ接合型の雌雄マウス (各群 n = 8) のホームケージ内での活動をウェブカメラ (IO-DATA, Cat# TS-NS110W) を使用して 24 時間撮影した。グルーミング行動は、前肢による顔の拭いや頭部と耳のこすり、全身グルーミングの時間と回数を計測し

た. 引っ掻き行動は, 後肢を持ち上げて頭部や体部に向かってストロークし, 足を床に戻すか, 口元に戻す(爪を噛む動作) ことと定義して, グルーミング行動とは区別してその回数を記録した.

統計解析

得られたデータは, 平均値±標準誤差で示した. 統計解析は two-way ANOVA (遺伝子型×性別) と多重比較検定 (Tukey-Kramer test) を行い, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ を有意差ありとした. また, 脱毛または皮膚創傷の発生率には Kaplan-Meier 法を用い, 群間比較にはログランク検定を用いた.

3. 結果

DLGAP1 KO マウスの脱毛または皮膚創傷は, 雌雄共に生後 3 ヶ月頃から見られ, 生後 8 ヶ月までには半数のマウスが脱毛または皮膚創傷を示した

(図 1, 赤・黒線). この表現型は年齢が経過すると共に増加し, 生後 12 ヶ月では約 90%のマウスで脱毛または皮膚創傷が見られた(図 1, 赤・黒線). 発生部位は, 頭, 首, 顔, 鼻, 耳, 背部, 腹部などの様々な部位で見られ, 脱毛や皮膚創傷の程度には個体差があった. またヘテロ型マウスでは, 生後 12 ヶ月における脱毛または皮膚創傷の発生率は雌雄共に約 10%であった(図 1, 黄・青線). 野生型では, 脱毛または皮膚創傷は見られなかった(図 1, 赤・黒鎖線).

次に, ホームケージ内でのグルーミング行動を 24 時間観察した結果, DLGAP1 KO マウスは野生型またはヘテロ型と比較して, 雌雄共に総グルーミング時間とグルーミング回数および後肢での引っ掻き回数の有意な増加が見られた(図 2). また, DLGAP1 KO 雌マウスの方が雄マウスよりもグルーミング回数と引っ掻き回数が多かった(図 2).

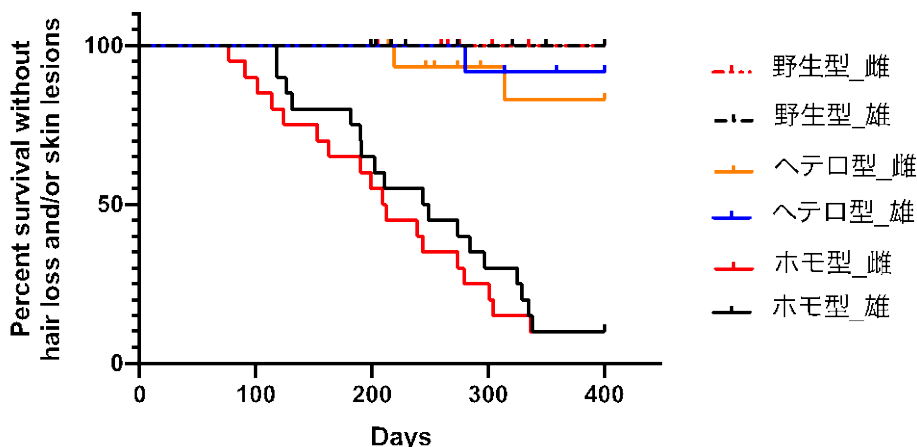


図 1 脱毛または皮膚創傷の累積発生率

ログランク検定により p 値を算出. (野生型雌 vs ホモ型雌, $p < 0.0001$; 野生型雄 vs ホモ型雄, $p < 0.0001$; 野生型雌雄, 各 $n = 16$, ヘテロ型雌雄 各 $n = 16$, ホモ型雌雄 各 $n = 20$)

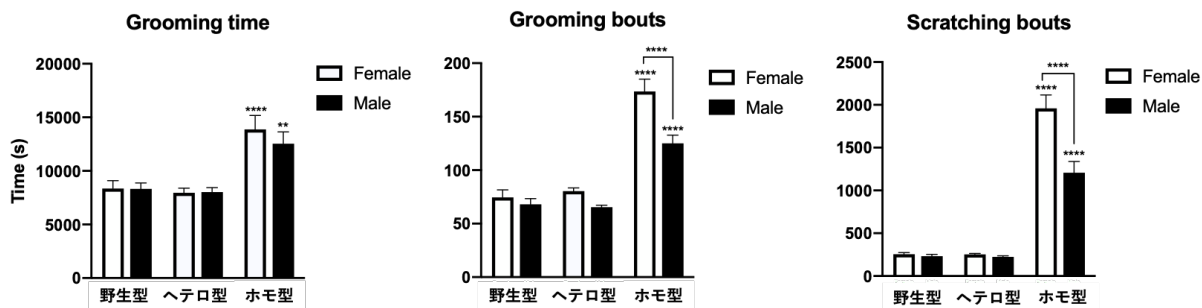


図 2 総グルーミング時間とグルーミング回数, 引っ掻き回数

24 時間行動観察による各項目の結果. $**p < 0.01$, $****p < 0.0001$, 各群 $n = 8$.

4. 考察

自己グルーミング行動は、齧歯類において最も一般的に観察される行動の一つである⁵⁾。過度の自己グルーミング行動は精神・神経疾患のいくつかの動物モデルで観察されており、反復行動の有用な尺度となる^{5),6)}。DLGAP1 KO マウスで観察された過剰なグルーミングと引っ掻き行動に伴う脱毛または皮膚創傷は、強迫症関連症群のモデルとなり得る。現在、強迫症関連症群で使用される薬物が DLGAP1 KO マウスの過剰なグルーミング行動を抑制するのに有効であるかを検討中である。また、グルーミング行動は高度にパターン化されており、過度のグルーミング行動は運動プログラムを制御する皮質線条体視床皮質回路の調節不全であることが示唆されている^{7),8)}。DLGAP ファミリーである DLGAP3 は線条体で高発現し、DLGAP3 ノック

アウトマウスは強迫症様症状を示すことが報告されている⁹⁾。一方 DLGAP1 は、大脳皮質や小脳などに発現しているが、DLGAP3 をはじめとしたこれまでに報告されている他の DLGAP ファミリーの変異に関する行動表現型は、様々な脳領域での発現レベルに相関する可能性がある。今後は DLGAP1 KO マウスにおける強迫症関連症群のモデルの可能性を検討するとともに、過度のグルーミング行動における DLGAP1 の役割を調べることで、反復的な行動障害の理解を深めることができると考えている。

5. 結語

DLGAP1-KO マウスは、過剰な自己グルーミング行動と引っ掻き行動により脱毛または皮膚創傷を示す。

6. 文献

- 1) Daniel HG and Jonathan Fl. Genetics and genomics of psychiatric disease. *Science*. 2015; 349(6255): 1489-94.
- 2) Myrrhe VS and Casper CH. Synapse pathology in psychiatric and neurologic disease. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2010;10: 207-214.
- 3) Rasmussen AH, Rasmussen HB, et al. The DLGAP family: neuronal expression, function and role in brain disorders. *Mol Brain*. 2017; 4:10(1):43.
- 4) Yunxia Bai et al. SAPAP Scaffold Proteins: From Synaptic Function to Neuropsychiatric Disorders. *Cells* 2022; 11(23):3815.
- 5) Allan VK et al. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. 2016;17(1):45-59.
- 6) Camilla D'angelo, L. S et al. Animal models of obsessive-compulsive spectrum disorders. *CNS Spectr*. 2014;19(1):28-49.
- 7) Ahmari, S. E. et al. Repeated cortico-striatal stimulation generates persistent OCD-like behavior. *Science* 2013; 340, 1234-1239.
- 8) Vicente, A. M. et al. Cortico-basal ganglia circuits underlying dysfunctional control of motor behaviors in neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Genet Dev* 2020; 65, 151-159.
- 9) Welch, J. M. et al. Cortico-striatal synaptic defects and OCD-like behaviours in Sapap3-mutant mice. *Nature* 2007; 448, 894-900.

日本大学医学部臨床試験研究センター研究紀要
Bulletin of the Clinical Trials Research Center,
Nihon University School of Medicine

編集委員会

委員長	高橋泰夫
委員	西山博孝
幹事	葛西玲広

Editorial Board

Editor-in-Chief	Yasuo TAKAHASHI
Associate Editors	Hiroataka NISHIYAMA
Managing Editors	Reo KASAI

発行者	日本大学医学部臨床試験研究センター長 浅井 聡
発行所	日本大学医学部 〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町 30-1 Tel.03-3972-8111
Publisher	Satoshi ASAI Director, Clinical Trials Research Center, Nihon University School of Medicine 30-1, Ohyaguchi-kamicho, Itabashi-ku, Tokyo 173-8610 JAPAN Phone +81-3-3972-8111
