

デュピルマブの潜在的な新規適応症の同定

Jana Sponarova, Frank Staubli and Philip Zimmermann

NEBION AG, Hohlstrasse 515, 8048 Zurich, Switzerland

要約

GENEVESTIGATOR は遺伝子発現の検索エンジンです。非常に特異的なプロファイル(例えば、標的遺伝子やバイオマーカー)を持つ遺伝子を特定したり、選択した遺伝子の転写活性に関連した条件を見つけたりするために数千の実験を同時に解析できます。この事例では、IL-4R α に対するモノクローナル抗体で阻害剤として働くデュピルマブの発現パターンを解析しました。デュピルマブは現在、アトピー性皮膚炎と喘息の治療のための臨床試験が行われています。この発現パターンを幅広い疾患に由来する 3,230 のキュレーションされた発現プロファイルと比較しました。3 つの免疫抑制性のモノクローナル抗体、ブロダルマブ、エタネルセプト、インフリキシマブがデュピルマブの発現パターンと最もよく似たパターンをもつものとして特定されました。これらの薬は様々な自己免疫疾患に対して有効であることが知られています。逆の手法として、デュピルマブの発現パターンと逆のパターンを示す実験条件を検索しました。主要適応症を確認できただけでなく、デュピルマブが類似の発現パターンをもたらす他のいくつかの疾患も特定できました。にきび、乾癬、酒さ、皮膚移植、関節リウマチ、炎症性大腸炎です。この事例は、GENEVESTIGATOR がどのように 1 つの実験/化合物の結果を他のたくさんの実験の結果と効率的に比較して、特定の薬物の潜在的な新しい適応症を特定するのに助けになることができることを示しています。

1 類似の発現応答をもたらす実験条件の特定

デュピルマブは、IL-4 と IL-13 の両方のシグナル伝達を阻害する IL-4 受容体 α サブユニットに対するヒトモノクローナル抗体です。この抗体は現在、アトピー性皮膚炎と喘息に対する潜在的な治療薬として臨床試験が行われています。最近、中程度から重度のアトピー性皮膚炎の患者に対するデュピルマブ治療の最初の発現パターンが論文になりました(Hamilton JD et al, *J Allergy Clin Immunol*, 2014)。未処置の病変部と比べて週当たり 300mg のデュピルマブを 4 週間使って治療した皮膚病変部の生検における遺伝子発現の効果を解析することを選択しました。2 倍以上発現が変動した遺伝子だけを選択しました。その結果検索された発現パターンは 182 個の遺伝子を含みます。53 個の発現上昇遺伝子と 129 個の発現低下遺伝子です(ご要望に応じてデータは提供可能です)。

類似の発現パターンを生じる実験条件を特定するために、GENEVESTIGATOR (Hruz et al, 2008)を使用しました。Affymetrix Human U133 Plus 2.0 プラットフォームで解析された 49,191 個のサン

プルの発現データを選択しました。次に、SIMILARITY SEARCH TOOLS の *Signature tool* を使って最もよく似た発現パターンを生じる上位 50 個の実験条件を検索しました(図 1)。



図 1: アトピー性皮膚炎に 4 週間デュピルマブで治療した発現パターンに最もよく似た上位 50 個の実験条件の特定。この解析で使用した発現パターンは治療前後の皮膚病変部を比較した線形スケールの fold-change の値から構成されます。画像は *Signature tool* の基本的な図をトリミングしました。

炎症性疾患の治療のために考案された他の 3 個の抗体、すなわちプロダルマブ(IL-17 受容体に対する抗体)、エタネルセプトとインフリキシマブ(両方とも TNF α 阻害剤)は解析した 182 個の遺伝子で類似の発現パターンを生じる上位の実験条件の中に同定されました(青矢印は図 1 のリストで最初に現れた場所を示しています)。特にプロダルマブは非常に高い応答の類似性を示しました。類似の影響が生じる他の実験条件はシクロスポリン(T 細胞免疫抑制剤)とベタメタゾン(抗炎症性および免疫抑制性の糖質コルチコステロイド)です。両方とも図 1 の黄色矢印で示しています。

2 潜在的な新規適応症の特定

前述したような他の免疫抑制薬で同定された発現応答の高い類似性はデュピルマブの幅広い治療的使用を示唆します。これをさらに詳しく調べるために、最も似た実験条件というよりむしろ最も異なる実験条件を見つける目的で *Signature tool* を逆の方法で使いました。ガンはゲノムの大きな異常を引き起こすことが知られているので、非腫瘍性の実験条件だけをスクリーニングすることを選択しました。2,941 個の比較実験に集約される 28,683 個のサンプルに対応します(図 2)。

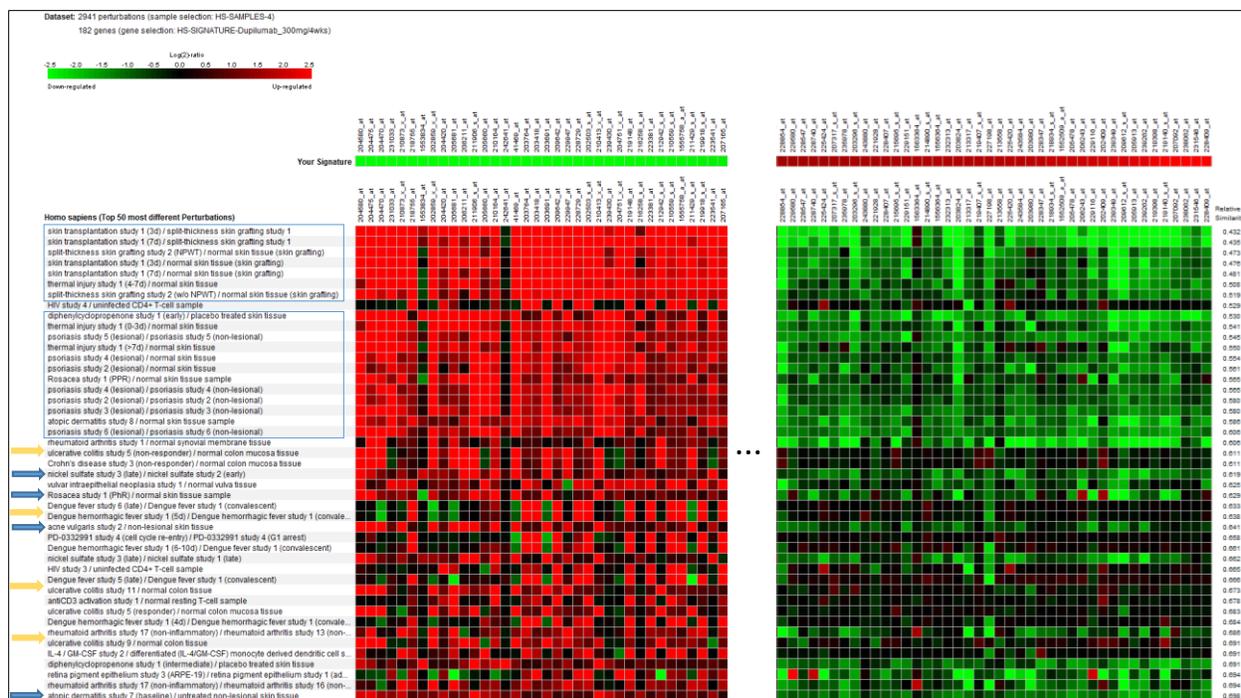


図2: アトピー性皮膚炎に4週間デュピルマブで治療した発見パターンに最も異なる上位50個の実験条件の特定。発見パターンは治療前後の皮膚病変部を比較した線形スケールの fold-change の値を入力しました。画像は Signature tool の基本的な図をトリミングしました。

182 個の遺伝子セットに対して最も逆相関する実験条件は、(この事例の仮説を裏付ける)他のアトピー性皮膚炎の実験、皮膚移植、熱傷、乾癬、酒さ、にきび、硫酸ニッケルによる皮膚炎のような他の複数の皮膚疾患(図 2 の青枠と青矢印)を含みます。さらに、関節リウマチ、クローン病、潰瘍性大腸炎、デング出血熱のような他の治療領域の疾患も同定されました(図 2 の黄色矢印)。

3 他の解剖学的部位における発見

デュピルマブの発見パターンに関連した生物学的機能をさらに解析するために、異なる組織や細胞腫で対応する遺伝子の発現量をクラスタリングしました。この解析は GENEVESTIGATOR の Hierarchical Clustering tool を使って実行しました。この目的を達成するために、デュピルマブの発見パターンの遺伝子を 2 つのグループに分割しました。すなわち、発現上昇遺伝子と発現低下遺伝子です。非腫瘍性の実験条件の発現量の値を使って遺伝子と解剖学的部位の両方にクラスタリングを実行しました。次に、特定の組織で共通の発見を示す遺伝子のクラスターを探しました(図 3)。

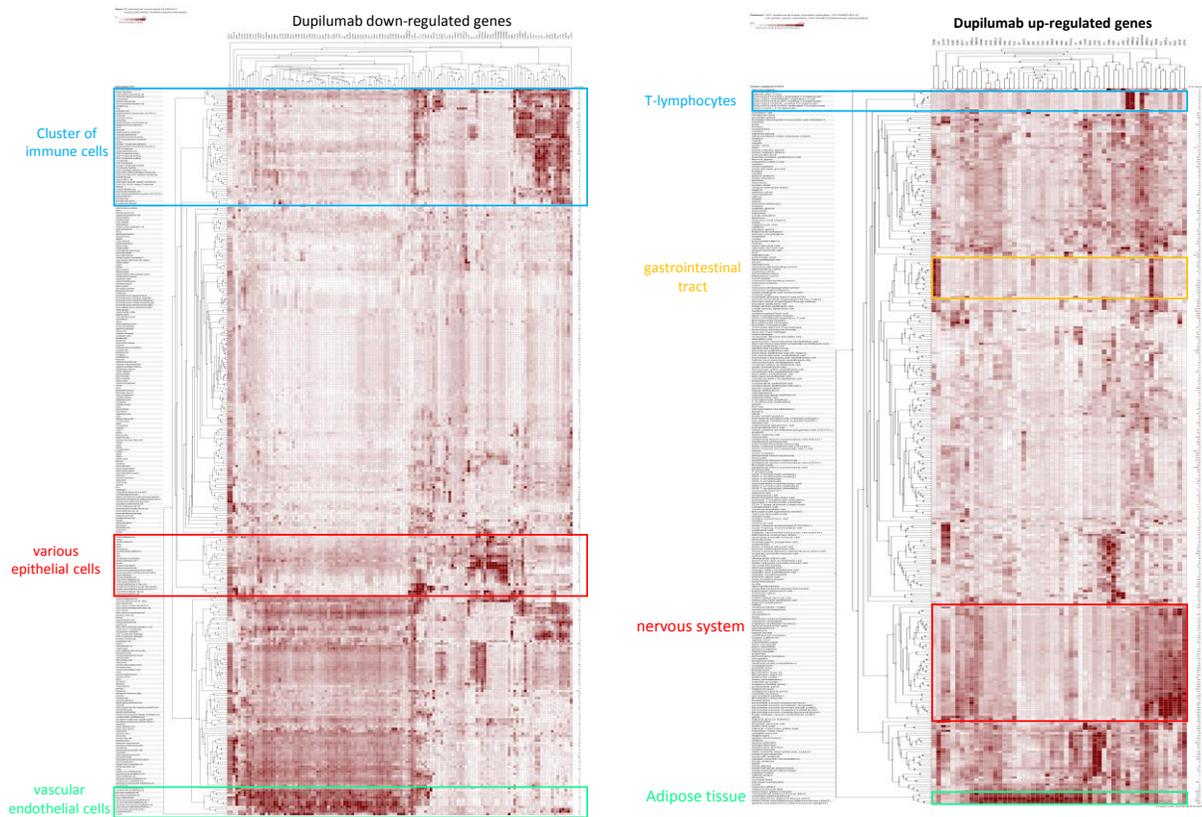


図 3: デュピルマブの治療に反応して発現が低下した遺伝子(左側)と上昇した遺伝子(右側)の代表的な組織の発現量のクラスタリング。画像は Hierarchical Clustering tool の図を垂直方向に短縮しました。

デュピルマブの治療に反応して発現が上昇する遺伝子の中で最も大きなクラスターは脂肪組織で高発現を示します(図 3 参照)。このクラスターの遺伝子(例えば、ACACB、LEP、PLIN1、PLIN4)はすべて脂肪酸合成と脂質輸送に関与しています。むしろデュピルマブの主な標的遺伝子である IL-4 と IL-13 はともに脂質賛成を抑制することが知られています。その結果、表皮バリアーの障害に寄与しています。したがって、遺伝子と解剖学的部位の関連は薬の生物学的作用を提示しています。この解析により薬の生物学的機能のさらなる理解を素早く深めることができ、主な治療的利益がある組織ではない他の組織での潜在的な副作用を予測することもできます。

4 結論

精緻にキュレーションされ完全に統合された GENEVESTIGATOR の薬と疾患の遺伝子発現データをうまく活用することにより、2 種類の結果を得ることができました。a) デュピルマブと似た発現変動をもたらす他の薬の発見、b) デュピルマブの新規適応症の発見です。デュピルマブの発現パターンの部位ごとの発現調節を理解するためにさらに解析を行いました。要約すると、デュピルマブはブロダルマブ、エタネルセプト、インフリキシマブと似た発現応答をすることを見出しました。適応症の発見の観点から、主要適応症(アトピー性皮膚炎)を確認したのに加えて皮膚移植、熱傷、感染、酒さ、にきび、硫酸ニッケルによる皮膚炎を含む複数の潜在的な適応症と関節リウマチ、クローン病、潰瘍性大腸炎、 Dengue 出血熱のような他の治療領域の適応症を特定しました。得られた結果はヒトの細胞でのデュピルマブの生物学的影響の実験的証拠を提供します。それにより幅広い知的財産保護を容易にし、拡張された適応症の臨床試験のデザインに役立ちます。

5 参考文献

1. Hamilton JD, Suárez-Fariñas M, Dhingra N, Cardinale I, Li X, Kostic A, Ming JE, Radin AR, Krueger JG, Graham N, Yancopoulos GD, Pirozzi G, Guttman-Yassky E. **Dupilumab improves the molecular signature in skin of patients with moderate-to-severe atopic dermatitis.** J Allergy Clin Immunol. 2014 Dec;134(6):1293-300
2. Hruz T, Laule O, Szabo G, Wessendorp F, Bleuler S, Oertle L, Widmayer P, Grussem W and P Zimmermann (2008) **Genevestigator V3: a reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes.** Advances in Bioinformatics 2008, 420747