

— 別添2 —

厚生科学研究費補助金総括研究報告書

医薬品等の副作用又は医療用具の不具合情報の収集
及び活用に関する研究

2000年度厚生科学研究費

医薬安全総合研究事業

主任研究者 神沼 二真

(国立医薬品食品衛生研究所)

厚生科学研究費補助金（医薬総合研究事業）
総括研究報告書

医薬品等の副作用又は医療用具の不具合情報の収集及び活用に関する研究

主任研究者 神沼 二眞 国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部

研究要旨 副作用情報を含む医薬品に関する有用情報を提供しているインターネット上の厳選されたサイトを対象とする、既開発の検索エンジンを、コンテンツおよび検索機能の両面で改良した。わが国で申請、認可されているすべての医薬品について、名称（一般名）、構造式などの識別情報をデジタルデータとしたデータベースを開発し、実験的にインターネットで公開した。さらに、医薬品の標的分子の同定、標的との結合のQSAR、転写への影響についても検討した。

分担研究者：

神沼 二眞 国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部 部長

「統合情報計算基盤環境の構築」

山本 直樹 東京医科歯科大学医学部微生物学教室

「臨床データの収集と解析」

別府 宏暁 東京都立北療育医療センター院長

「医薬品情報の収集、ビジランス収集」

A. 研究目的

医薬品の副作用情報に関しては、有用な情報を速やかに収集し、医療従事者に迅速に提供することが最も重要な課題である。報告者らは1994年以来、国立医薬品食品衛生研究所のインターネット接続環境を整備しながら、薬のガイド（一般向けの薬の説明書）、PharmWeb（ワールドワイドの薬のネットワーク）のミラーサイト、コクランセンターのシステムチックレビューの日本語版の掲載、その他の医薬品関連情報の提供を試みてきたが、先駆的な試みとして好評を博してきた。こうした経験をベースとして、インターネット上の有用な情報を探索、収集して、一般に（あるいは関係者だけに限定した形で）提供するシステムを開発することを、本研究の第一の目的とする。

上記の研究と並行して、医薬品の副作用や相互作用に関する分子構造に基づく解析（いわゆる構造活性相関、QSAR）や予測の研究を進める。その第一歩として、わが国で承認されたすべての医薬品に関する一般名と3次元構造を含むデータベースを開発する。また、チトクローム P450 (CYP) などの薬物代謝酵素と薬物との相互作用に関するデータベースを開発する。さらに、これらの薬物に関するデータベースを、別に開発している薬物受容体のデータベースや細胞信号伝達系に関するデータベースに連結し、薬物が受容体に結合して起きる細胞応答の様子を分子レベルで追跡するためのコンピュータシステムの基盤を検討する。

B. 研究方法

検索エンジンの開発に関しては Web 上にある、

1. 各国、各機関の医薬品安全性情報
2. 主要ジャーナル
3. ニュースグループ、メーリングリスト

を対象とし、収集サイトの見直しを行う。つぎに、検索エンジンについては UNIX 上で動く商品ソフトウェアである Open Text をベースに、フリーウェアである収集ロボット Wget を組み合わせたシステムを昨年試作したが、PDF ファイルを対象にできないこと、収集サイトの数に上限があることなどの問題があることがわかったので、本年はアドイン研究所の商品ソフトである Flex Search を用いたシステムを採用してシステムを開発する。また高次の検索機能としては、パスワードを必要とするサイトに自動的にパスワードを送ってコンテンツを収集する方法や、医学用語集である MedDRA/J を組み込んで、類縁語を辿った柔軟な検索方法ができないかを検討する。

さらに国内外の主要な学術誌や学会抄録などをサーベイして医薬品および医療用具の不具合に関する情報を収集してインターネットで提供する実験を行う。

医薬品の一般名と構造データベースの開発については、JAN (Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals) の電子メディアとすることを目標として、一般名、CAS 登録番号、IUPAC 名、構造式、3次元座標、申請日時などの関連情報をデータ項目とするデータベースを作成する。

医薬品の ADME (吸収、分布、代謝、排泄) に関する知見に関しては、まず P450 の多様なサブファミリーについての知見を整理し、薬物間相互作用を検討する。標的となる生体分子については、膜にある受容体、酵素、核内受容体など、代表例についてデータを整理する。標的と薬の結合に関しては、エストロゲン受容体をモデルとして、QSAR モデルを作成する。エストロゲン受容体はリガンド結合型の転写因子であるので、これをモデルとして転写の機構、mRNA とタンパク質の生成の流れをモデル化する。

シグナルの流れのモデル化には、申請者らが開発した細胞シグナル伝達ネットワークのデータベースである CSNDB を用い、実際の実験データとしては、免疫系の B 細胞に EBVE (Epstein-Barr Virus) を感染させ、非感染系との差異を mRNA をマーカーとして SAGE で確認する実験を検討材料とする。

C. 研究結果

副作用を含む医薬品の有用サイトを対象とした検索エンジンの開発については以下の改良を行った。

(1) 検索エンジンの収集対象になるインターネット上のサイトの見直しを行った。現在の対象サイトは約41である。

(2) パスワードの自動入力やMedDRA/Jなど専門用語の辞書を用いて検索できるように、検索機能を改善した。ただしこのシステムはMedDRAのライセンスの制約からインハウスでのみ公開している。

(3) 国立衛研の専用マシン上に、インターネット上で収集利用できる各種の情報コンテンツを有機的に検索利用できる検索エンジンを中核とした環境を構築した。

また情報収集対象としては、国内外の医学雑誌、学会抄録、インターネットなどにある医薬品および医療用具の不具合に関する情報を収集、整理し、ウェブで提供できるように再編集した。

医薬品のデータベースは、一般名、CAS 番号、IUPAC 名、構造式、3次元座標などを持つ JAN の電子版であるデータベースを開発した。

このデータベースとは独立に、薬物代謝酵素 P450 による薬物相互作用の知識ベースを開発した。ここでは P450 の多様な分子種に対して、それらを誘導する薬物、それらによって代謝を受ける薬物、その作用を阻害する薬物についてリレーショナル・データベースの形で整理し、ウェブから検索可能とした。また、臨床上重要な相互作用事例についても、P450 の分子種または医薬品名から検

索可能とした。

さらに、受容体など薬物の標的となる生体分子のデータベースの開発を試みた。

また、これらのデータベースを基礎として副作用、相互作用の予測や CoMFA や分子軌道 (MO) 法を用いた構造活性解析を試みている。

B 細胞系 (BJAB) に関する実験では EBV 感染に関与する遺伝子として EBER を同定しているの
で、EBER-transfected BJAB と vector-transfected BJAB との間の mRNA の発現の差を SAGE で検出し、
発現に差のある遺伝子のプロモーター (領域) の解析を行い、EBER で活性化される転写因子とシ
グナルパスウェイの関係を CSNDB を用いて解析する実験とデータベース利用法の検討を行って
いる。

D. 考察

本研究の第一の目標は、インターネット上に分散して存在している各国の政府が提供している副
作用情報、医薬品に関する主要学術雑誌、医薬関係のニュースグループやメーリングリストなどを
情報源として、ユーザが検索エンジンによってこれらのサイトに含まれる情報を探索できるシステ
ムを開発することであった。さらにそれらの情報をクローズドなインハウスのデータベースとして
検索利用できるシステムを開発し、それらの利用実験結果を踏まえてさらに実用的な情報交換の方
式について提言することを目標としてきた。

ある視点からインターネット上の有用なサイトを選択して、そこで提供されている情報を検索で
きるようにするシステムは一般にポータル (サイト) と呼ばれる。現在 Yahoo や Goo などの商業サ
イトが、特定の分野に的を絞った情報を提供する分野ごとのポータルづくりに乗り出しているが、
われわれの開発したシステムはそれらでは代替され得ない。その理由は、対象となるサイトを選別
するのに専門知識と経験が必要なことであり、また検索機能も用語や辞書を用いることで高次の
ものになっているからである。しかし、ポータルが成功するためには、使い続けられていく必要があり、
それはこのシステムの将来の課題である。

ただ、現在のわれわれのシステムも、PDF ファイルの扱いや、収集サイト数の制限、検索の柔軟
性などの点において大いに改良の余地がある。しかし、ポータルはインターネット関連技術として
も最近非常に注目され、新しい技術が開発されているため、これらの技術的な問題はいずれ解消さ
れていくであろう。また、パスワードが必要とされるサイトにパスワードを自動的に送付して情報
を収集する方法は、この方法を適用できるサイトが増えれば有用性を発揮するであろう。

薬の名称と構造データベースは、すでに型としては完成されているので、今後は更新だけが問題
となる。CYP 関連の知識ベースは、現在は各分子種ごとの誘導剤、基質、阻害剤、対処法や代替薬
などの情報を検索できるシステムである。今後は P450 によるパスウェイを含め、代謝全体の系が把
握できるような記述モデルが必要である。本年の研究では SSRI (Selective Serotonin Reuptake
Inhibitor (例 マレイン酸フルボキサミン)) などの薬についてより詳しい記述モデルを作成するこ
とを試みたが、実用に向けては対象とする薬をさらに増す必要がある。

薬の標的分子についても、まだ代表的なものしか検討していない。これを増すことが今後の課題
である。

QSARについては、CoMFAと分子軌道法による精密なエネルギー計算を求める方法を適用して一部成
功したが、今後はより多くの場合に適用することが課題である。

BJAB Cellを用いたEBERの発現への影響の解析実験に関しては、もし予想通りの結果が得られれば、
エイズウイルス (HIV) によって発現が変動する遺伝子や転写因子の解明につながる新しい方法論へ
の道が開かれるという意味で、極めて重要である。

E. 結論

インターネット上にある医薬品の副作用を含む有用情報を調査し、これに独自の情報コンテンツを加えた情報提供システムを構築した (URL <http://www.nihs.go.jp/dig/searchengine.html>)。これまでは研究の総括者らと分担者らがそれぞれ独自にシステムを開発してきたが、本年はこれらの情報資源を総括者らが開発している国立医薬品食品衛生研究所のインターネット環境で統合的に利用できる環境を開発した。このシステムにはFlex Searchを基礎とした独自の検索エンジンが組み込まれている。また、この検索エンジンはMedDRA/Jなど医学専門用語の辞書を用いて検索できるような、高次の検索機能が組み込まれている。

医薬品のデータベースとしては、一般名、CAS番号、IUPAC名、構造式、3次元座標などを持つJANの電子版であるデータベースを開発した。これとは別に、P-450の知識ベースを開発し、双方の統合を進めている。さらに、受容体など薬物の標的となる生体分子のデータを追加することを検討している。さらに、これらのデータベースを基礎として副作用、相互作用の予測やCoMFAや分子軌道 (MO) 法を用いた構造活性解析を試みている。次年度以後の研究はこうした副作用や相互作用の予測や構造活性相関、医薬品やウィルスとの結合後におけるシグナルの流れの解析に焦点を合わせる予定である。

F. 研究発表

- Nakata, K., Takai, T., Nakano, T. and Kaminuma, T. : Receptor Database (RDB): As an Analytical Tool. RECOMB 2000 (2000, 4 東京)
- Nakata, K., Takai, T., Nakano, T. and Kaminuma, T.: Receptor Database (RDB) as an analytical tool for the drug design. International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. (2000, 8, Novosibirsk)
- 鈴木聡子, 川出達, 瀧明子, 長谷川式子, 山本美智子, 中野達也, 宮田直樹, 神沼二眞: 医薬品一般名称のデータベース化, CBI学会(2000.7)
- 高井貴子, 徳永雅彦, 中田琴子, 神沼二眞: 公開 SNPs データの自動収集システム, CBI学会(2000.7)
- Takako Takai-Igarashi and Tsuguchika Kaminuma : Cell Signaling Networks Database and its Application to Medicinal Biology, CBI学会(2000.7)
- 高井貴子, 徳永雅彦, 中野達也, 中田琴子, 神沼二眞: MOBI-DICS 開発における生体影響データベースの統合, CBI学会(2000.7)
- 山本美智子, 高井貴子, 中野達也, 會田喜崇, 濱義昌, 落合宏英, 清水広, 斉藤竜太, 小沢直記, 橋本宗弘, 神沼二眞: 薬物代謝酵素チトクローム P450 関連知識ベース, CBI学会(2000.7)
- 鈴木 聡子, 横山 美和, 川出 達, 瀧 明子, 長谷川 式子, 山本 美智子, 小峰 啓, 中野 達也, 宮田直樹, 神沼 二眞: 医薬品一般名称のデータベース化 (その 2)、第 23 回情報化学討論会 (2000.10 京都)
- 小谷野 和郎, 中野 達也, 神沼 二眞: CoMFA を用いたダイオキシン類の構造活性相関解析、第 28 回構造活性相関シンポジウム (2000.10 京都)
- 福澤 薫, 小谷野 和郎, 中野 達也, 中田 琴子, 神沼 二眞: エストロゲン受容体リガンド結合エネルギーの計算による予測、第 28 回構造活性相関シンポジウム (2000.10 京都)
- K. Nakata, T. Nakano T. Takai and T. Kaminuma :Pharmacoinformatics Infrastructure for Genome Based Personalized Medicine , Genome Workshop (12.2000)
- Kotoko Nakata, T. Nakano, K. Fukuzawa, K. Koyano and T. Kaminuma: MODE OF ACTION ANALYSIS OF ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS. American Biophysical Society Meeting (2001, 2.17-21, Boston)

- ・ 山本美智子、落合宏英、會田喜崇、濱義昌、小沢直記、高井貴子、中田琴子、神沼二眞：薬物代謝酵素チトクローム(CYP)P450 相互作用データベース、薬学会 (2001.3)
- ・ K. Nakata, T. Takai-Igarashi and T. Kaminuma: Development of A Receptor Database: Application to the Endocrine Disruptor Problem. *Bioinformatics*, vol.15, pp.544-552 (1999)
- ・ T. Kaminuma, T. Takai-Igarashi, T. Nakano, and K. Nakata: Modeling of Signaling Pathways for Endocrine Disruptors, *BioSystems*, 55, 23-31 (2000)
- ・ Fujii M, Iwai K, Oie M, Fukushi M, Yamamoto N, Kannagi M, Mori N.: Activation of oncogenic transcription factor AP-1 in T cells infected with human T cell leukemia virus type 1 *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*, 16:1603-6, 2000
- ・ Mori N, Fujii M, Iwai K, Ikeda S, Yamasaki Y, Hata T, Yamada Y, Tanaka Y, Tomonaga M, Yamamoto N.: Constitutive activation of transcription factor AP-1 in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood.*, 95:3915-21, 2000
- ・ Takahashi K, Baba S, Hayashi Y, Koyanagi Y, Yamamoto N, Takaku H, Kawai G.: NMR analysis of intra- and inter-molecular stems in the dimerization initiation site of the HIV-1 genome. *J. Biochem (Tokyo)*. 127:681-6, 2000
- ・ Ryo A, Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A, Yamamoto A, Yamamoto N: A Modified Serial Analysis of Gene Expression That Generates Longer Sequence Tags by Nonpalindromic Cohesive Linker Ligation. *Anal. Biochem.*, 277:160-162, 2000
- ・ Hodohara K, Fujii N, Yamamoto N and Kaushansky K : Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) acts together with thrombopoietin to enhance the development of megakaryocyte progenitor cells (CFU-MK). *Blood*, 95:769-775, 2000.
- ・ Tsurutani N, Kubo M, Maeda Y, Ohashi T, Yamamoto N, Kannagi M, Masuda T: Identification of critical amino acid residues in human immunodeficiency virus type 1 IN required for efficient proviral DNA formation at steps prior to integration in dividing and nondividing cells. *J. Virol.* 74:4795-806, 2000
- ・ Park WS, Miyano-Kurosaki N, Abe T, Takai K, Yamamoto N, Takaku H : Inhibition of HIV-1 replication by a new type of circular dumbbell RNA/DNA chimeric oligonucleotides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 270:953-60, 2000
- ・ Mori N, Wada A, Hirayama T, Parks TP, Stratowa C, Yamamoto N Activation of intercellular adhesion molecule 1 expression by *Helicobacter pylori* is regulated by NF-kappaB in gastric epithelial cancer cells. *Infect. Immun.* 68:1806-14, 2000
- ・ Momoi Y, Ichiyama K, Chowdhury IH, Koyanagi Y, Yamamoto N: Pertussis toxin enhances human immunodeficiency virus type 1 replication. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*, 16:373-9, 2000
- ・ Takahashi KI, Baba S, Chattopadhyay P, Koyanagi Y, Yamamoto N, Takaku H, Kawai G.: Structural requirement for the two-step dimerization of human immunodeficiency virus type 1 genome. *RNA* 6:96-102, 2000
- ・ Mori N, Wada A, Hirayama T, Parks TP, Stratowa C, Yamamoto N: Activation of intercellular adhesion molecule 1 expression by *Helicobacter pylori* is regulated by NF-kappaB in gastric epithelial cancer cells. *Infect. Immun.* 68:1806-14, 2000
- ・ Premanathan M, Rajendran S, Ramanathan T, Kathiresan K, Nakashima H, Yamamoto N. A survey of some Indian medicinal plants for anti-human immunodeficiency virus (HIV) activity. *Indian J. Med. Res.*, 112:73-7, 2000
- ・ Matsuda K, Li JL, Ichinose S, Harasawa R, Saito M, Yamamoto N. Monoclonal antibody against *Mycoplasma fermentans*-specific aminoglycoglycerolipid. *Microbiol. Immunol.* 44:695-702, 2000
- ・ Mori N, Ueda A, Ikeda S, Yamasaki Y, Yamada Y, Tomonaga M, Morikawa S, Geleziunas R,

- Yoshimura T, Yamamoto N. Human T-cell leukemia virus type I tax activates transcription of the human monocyte chemoattractant protein-1 gene through two nuclear factor-kappaB sites. *Cancer Res.*, 60: 4939-45, 2000
- Shuda M, Kondoh N, Tanaka K, Ryo A, Wakatsuki T, Hada A, Goseki N, Igari T, Hatsuse K, Aihara T, Horiuchi S, Shichita M, Yamamoto N, Yamamoto M. Enhanced expression of translation factor mRNAs in hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res.* 20:2489-94, 2000
 - Ryo A, Suzuki Y, Arai M, Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A, Shuda M, Tanaka K, Sato C, Yamamoto M, Yamamoto N.: Identification and characterization of differentially expressed mRNAs in HIV type 1-infected human T cells. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 16:995-1005, 2000
 - Tsunetsugu-Yokota Y, Kato T, Yasuda S, Matsuda Z, Suzuki Y, Koyanagi Y, Yamamoto N, Akagawa K, Cho MW, Takemori T. Transcriptional regulation of HIV-1 LTR during antigen-dependent activation of primary T cells by dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 67:432-40, 2000
 - Takahashi Ki, Baba S, Hayashi Y, Koyanagi Y, Yamamoto N, Takaku H, Kawai G. : NMR Analysis of Intra- and Inter-Molecular Stems in the Dimerization Initiation Site of the HIV-1 Genome. *J. Biochem (Tokyo).* 127:681-686, 2000
 - Yamamoto N, Takizawa T, Iwanaga Y, Shimizu N, Yamamoto N.: Malignant transformation of B lymphoma cell line BJAB by Epstein-Barr virus-encoded small RNAs. *FEBS Lett.* 484:153-8. 2000
 - Yoshida T, Miyagawa E, Yamaguchi K, Kobayashi S, Takahashi Y, Yamashita A, Miura H, Yamamoto N.: IL-2 independent transformation of a unique human T cell line, TY8-3 and its subclones by HTLV-I and -II. *Int.J.Cancer*, 91:99108, 2001.
 - Kusagawa S, Takebe Y, Yang R, Motomura K, Ampofo W, Brandful J, Koyanagi Y, Yamamoto N, Sata T, Ishikawa K, Nagai Y, Tatsumi M.: Isolation and characterization of Full-length molecular DNA clone of Chanaian HIV-1 intersubtype A/G Recombinant (CRF02-AG) which is replication-competent in restricted host-range. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, in press.
 - Owada T, Motomura T, Miyashita-Ogawa Y, Kawada-Homma M, Onishi M, Matando P, Terunuma H, Numazaki Y, Yamashita S, Yamamoto N.: Antibody masking renders HIV-1 resistant to the cationic membrane filtration through alteration of its electrostatic character. *J Immunol.Meth.*, in press
 - Jones SA, Horiuchi S, Yamamoto N, Fuller GM: The Soluble interleukin-6 receptor: Mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J.*, in press.
 - Murakami T, Yamamoto N.: Roles of chemokines and chemokine receptors in HIV-1 infection.: Roles of chemokines and chemokine receptors in HIV-1 infection. *Int. J. Hematol.*, in press.
 - Mori N, Morishita M, Tsukazaki T, Giam CZ, Kumatori A, Tanaka Y, Yamamoto N.: The human T-cell leukemia virus type-I oncoprotein Tax represses smad-dependent transforming growth factor b signaling via interaction with CREB binding protein/p300. *Blood*, in press.
 - Tamamura H, Sugioka M, Odagaki Y, Omagari A, Kan Y, Oishi S, Nakashima H, Yamamoto N, Peiper SC, Hamanaka N, Otaka A, Fujii N.: Conformational study of a highly specific CXCR4 inhibitor, T140, disclosing the close proximity of its intrinsic pharmacophores associated with strong anti-HIV activity. *Chem. Pharm. Bull.*, in press.
 - Nitta T, Igarashi K, Yamashita A, Yamamoto M, Yamamoto N.: Involvement of polyamines in B cell receptor-mediated apoptosis: Spermine functions as a negative modulator. *Exp. Cell. Res.*, in press.
 - Mori N, Ueda A, Gelezianus R, Wada A, Hirayama T, Yoshimura T, Yamamoto, N.: Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by *Helicobacter pylori* involves NF-kB. *Infect. Immun.*, in press.
 - Iwai K, Mori N, Oie M, Yamamoto N, Fujii M.: Human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein activates

transcription through AP-1 site by inducing DNA binding activity in T cells. *Virology*, in press.

別添 3 - 1

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

SAGEやmicroarrayによるtranscriptome解析で得られる情報を
基にしたsignal pathwayの推定

2000年度厚生科学研究費

医薬安全総合研究事業

分担研究者 山本 直樹

(東京医科歯科大学医学部微生物学教室)

厚生科学研究費補助金(医薬安全総合研究事業)
分担研究報告書

SAGE や microarray による transcriptome 解析で得られる情報を基にした
signal pathway の推定

分担研究者 山本 直樹 東京医科歯科大学ウイルス制御学
研究協力者 山本 典生 東京医科歯科大学ウイルス制御学

研究要旨

SAGE や microarray によって得られる大規模な transcriptome 情報から signal pathway を推定することをねらいとして、それぞれの profile で特異的に発現している遺伝子群のプロモーターをコンピュータ上で解析することにより特異的に発現している遺伝子群から特異的に働いている転写因子群の再構築を行った。その結果、ウイルス遺伝子により悪性度の増した細胞では細胞の増殖に関わる種々の転写因子が働いていることが推察された。現在、これらの転写因子が実際に機能しているかどうかを実験的に確認しているところである。今後、大規模 transcriptome 情報のこのような解析は、ますますその重要性を増していくと思われる。

A. 研究目的

SAGE や microarray による transcriptome 比較で得られる情報から細胞内で動いている signal pathway を推定することを目的として、特異的に発現している遺伝子群から特異的に働いている転写因子群を再構築するためのデータベース作成を試みた。

B. 研究方法

EBER-transfected BJAB cells と vector-transfected BJAB cells から RNA を抽出し、SAGE library を作成した。約 10000 tags からなる gene expression profile をそれぞれのサンプルについて構築し、transcriptome 比較を行った。プロモーター領域配列のデータベース構築については、EBER-transfected BJAB で発現が上昇している遺伝子及び発現が低下している遺伝子についてプロモーター領域の配列を NCBI, HGREP, DDBJ からサーチした。得られたプロモーター領域の配列から転写因子結合配列を抽出し、EBER-transfected BJAB cells と vector-transfected BJAB cells で出現頻度に差のある転写因子結合配列からそれぞれのサンプルで特異的に働いている転写因子を推定した。

(倫理面への配慮)

すでに樹立され実験にも頻用されている細胞株を用いていること、また公開されているゲノム情報に基づいて解析を行っていることを鑑みれば、特に倫理的に問題となるような内容は含まれていないと考えられる。

C. 研究結果

SAGE により得られた EBER-transfected BJAB で発現が上昇している遺伝子 30 個、発現が低下している遺伝子 30 個についてプロモーター領域の配列を整理中である。現時点ではヒトゲノムプロジェクトが完全に終了していないため、一部の遺伝子でプロモーター領域の配列を得ることができないという状況がある。不完全ではあるが、現在得られているデータから EBER-transfected BJAB cells で細胞増殖に関連する種々の転写因子が特異的に働いていることが推定された。現在、プロモーター配列の公開を待ちながらこれらの転写因子が実際に機能しているかどうかを Gel shift assay 等により実験的に確認しているところである。

D. 考察

今回用いた解析法を SAGE や microarray で得られる transcriptome 情報に適用するに当たり問題となるのは、現時点で入手可能なゲノムプロジェクトのデータがヒトゲノムのシーケンスを 100%カバ

一しているわけではないため、プロモーター配列を得ることができない遺伝子が存在するという点である。しかしこれは時が解決してくれるであろう。

今後、SAGE や microarray といった大規模 transcriptome 解析はますます広く用いられることが予想されるが、大量の情報の中から有用な情報をいかに抽出するかが非常に重要なポイントとなるであろう。そのような中で今回示したような transcriptome 情報へのアプローチは、ますますその重要性を増していくと思われる。

E. 結論

SAGE や microarray 法はきわめて短時間に膨大な transcriptome 情報が得られることから今後、ますます多用されていくことは間違いない。その反面、それを支える解析システムの充実ぶりにはまだ心許ないものがある。しかしこれがなければせつかくのデータも多すぎて身動きがとれないという事態にもなりかねない。今回の方法で示した転写因子と signaling pathway の推定は解析システムの確立のための草分けとなる貴重なものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Momoi Y, Ichiyama K, Chowdhury IH, Koyanagi Y, Yamamoto N: Pertussis toxin enhances human immunodeficiency virus type 1 replication. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*, 16:373-9, 2000

Ryo A, Suzuki Y, Arai M, Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A, Shuda M, Tanaka K, Sato C, Yamamoto M, Yamamoto N. Identification and characterization of differentially expressed mRNAs in HIV type 1-infected human T cells. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 16:995-1005, 2000

Takahashi K, Baba S, Hayashi Y, Koyanagi Y, Yamamoto N, Takaku H, Kawai G.: NMR analysis of intra- and inter-molecular stems in the dimerization initiation site of the HIV-1 genome. *J. Biochem.*, 127:681-6, 2000

Tsurutani N, Kubo M, Maeda Y, Ohashi T, Yamamoto N, Kannagi M, Masuda T: Identification

of critical amino acid residues in human immunodeficiency virus type 1 IN required for efficient proviral DNA formation at steps prior to integration in dividing and nondividing cells. *J. Virol.* 74:4795-806, 2000

Park WS, Miyano-Kurosaki N, Abe T, Takai K, Yamamoto N, Takaku H: Inhibition of HIV-1 replication by a new type of circular dumbbell RNA/DNA chimeric oligonucleotides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 270:953-60, 2000

Takahashi KI, Baba S, Chattopadhyay P, Koyanagi Y, Yamamoto N, Takaku H, Kawai G.: Structural requirement for the two-step dimerization of human immunodeficiency virus type 1 genome. *RNA* 6:96-102, 2000

Tsunetsugu-Yokota Y, Kato T, Yasuda S, Matsuda Z, Suzuki Y, Koyanagi Y, Yamamoto N, Akagawa K, Cho MW, Takemori T. Transcriptional regulation of HIV-1 LTR during antigen-dependent activation of primary T cells by dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 67:432-40, 2000

Tamamura H, Omagari A, Oishi S, Kanamoto T, Yamamoto N, Peiper SC, Nakashima H, Otaka A, Fujii N. Pharmacophore identification of a specific CXCR4 inhibitor, T140, leads to development of effective anti-HIV agents with very high selectivity indexes. *Bioorg Med Chem Lett.* ;10(23):2633-7, 2000.

Shuda M, Kondoh N, Tanaka K, Ryo A, Wakatsuki T, Hada A, Goseki N, Igari T, Hatsuse K, Aihara T, Horiuchi S, Shichita M, Yamamoto N, Yamamoto M. Enhanced expression of translation factor mRNAs in hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res.* 20:2489-94, 2000

Yamamoto N, Takizawa T, Iwanaga Y, Shimizu N, Yamamoto N.: Malignant transformation of B lymphoma cell line BJAB by Epstein-Barr

virus-encoded small RNAs. FEBS Lett. 484:153-8.
2000

Ryo A, Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A,
Yamamoto A, Yamamoto N: A Modified Serial
Analysis of Gene Expression That Generates
Longer Sequence Tags by Nonpalindromic
Cohesive Linker Ligation. Anal. Biochem.,
277:160-162, 2000

Kusagawa S, Takebe Y, Yang R, Motomura K,
Ampofo W, Brandful J, Koyanagi Y, Yamamoto N,
Sata T, Ishikawa K, Nagai Y, Tatsumi M.: Isolation
and characterization of Full-length molecular DNA
clone of Ghanaian HIV-1 intersubtype A/G
Recombinant (CRF02-AG) which is
replication-competent in restricted host-range.
AIDS Res. Hum. Retrov., in press.

Owada T, Motomura T, Miyashita-Ogawa Y,
Kawada-Homma M, Onishi M, Matando P,
Terunuma H, Numazaki Y, Yamashita S, Yamamoto
N.: Antibody masking renders HIV-1 resistant to
the cationic membrane filtration through alteration
of its electrostatic character. J. Immunol. Meth., in
press

Murakami T, Yamamoto N.: Roles of chemokines
and chemokine receptors in HIV-1 infection.: Roles
of chemokines and chemokine receptors in HIV-1
infection. Int. J. Hematol., in press.

Tamamura H, Sugioka M, Odagaki Y, Omagari A,
Kan Y, Oishi S, Nakashima H, Yamamoto N, Peiper
SC, Hamanaka N, Otaka A, Fujii N.:
Conformational study of a highly specific CXCR4
inhibitor, T140, disclosing the close proximity of its
intrinsic pharmacophores associated with strong
anti-HIV activity. Chem. Pharm. Bull., in press.

Nitta T, Igarashi K, Yamashita A, Yamamoto M,
Yamamoto N.: Involvement of polyamines in B cell
receptor-mediated apoptosis: Spermine functions as
a negative modulator. Exp. Cell Res., in press.

2. 学会発表

Serial analysis of gene expression and identification
of differentially expressed mRNAs in HIV-infected
human T cell lines.

SAGE 2000 Conference : Frontiers in Gene
Expression Analysis.

September 18-20, 2000

Baltimore, Maryland, USA

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

別添 3 - 2

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

医薬品情報の収集、ビジランス収集

2000 年度厚生科学研究費

医薬安全総合研究事業

分担研究者 別府 宏圀

(都立北療育医療センター)

厚生科学研究費補助金(医薬安全総合研究事業)
分担研究報告書

医薬品情報の収集、ビジランス収集

分担研究者 別府 宏暁 都立北療育医療センター
研究協力者 福井 直仁 高松赤十字病院薬剤科

研究要旨

1986～2000年の間に国内外の医学雑誌、学会抄録、インターネットなどに発表された医薬品および医療用具の不具合に関する情報を検索した。次に、それらの情報のうち、臨床的観点から判断して重要な情報、約3000件を選び、薬剤別の分類を行った。また、これらの情報を要約して電子媒体になじむような内容に編集しなおした。情報の中では、抗生剤など病原微生物に対する薬剤に関する情報が最も多く、ついで生物学的製剤、心・循環器系薬、抗ガン剤、向精神薬・鎮静薬等に関する情報が多かった。これらの中では、複数の薬が関与する相互作用に関する情報が1割弱を占めていた。最近の傾向としては、生物学的製剤、代謝性医薬品、向精神薬などに関する情報の重要性が増している。

A. 研究目的

国内外の医学雑誌、インターネット等に発表された医薬品副作用情報等を収集し、その内容を吟味し、臨床的重要性に応じた評価と選択・分類を行い、実地臨床に役立つ医薬品情報のあり方を研究すること。

B. 研究方法

(Ⅰ) 副作用情報

1986年以後、過去15年間に医学雑誌などに発表された医薬品副作用等に関する情報を検索し、5人の医師がそれぞれ独立して臨床的重要度を評価し、選択した。選択にあたっては、情報としての新しさ、他の情報との重複が少ないこと、国内で使用される可能性の高い薬であることなどが考慮された。ただし、現在は未承認薬であっても、近い将来日本でも使用される可能性が高かったり、その薬に関する情報が他の類似薬の使用に際して重要な意味をもつと判断される場合は採択した。情報は300～1000字程度の長さに要約し、電子媒体の情報として利用しやすいようにできるだけ簡潔な表現で現すことを心がけた。

(Ⅱ) 妊婦への安全情報

妊娠中の薬剤使用の安全性に関しては、先天異常の発生や、流・早産、分娩障害などを防止する上でもデータに裏付けられた情報が求められている。オーストラリアの医薬品評価委員会が公表している妊娠中の医薬品リスク評価カテゴリーは、その実証性の確かさでよく知られている。このリストの中にはオーストラリアだけでしか使用されていない薬が一部含まれているが、その大部分は日本でも常用されている薬であり、現実の診療場面では極めて利用価値の高い情報である。原本(英文)はインターネットでも利用できるが、日本国内での使用状況や商品名などとの対応がないこともあって、まだ広く利用されるにいたっていない。そこでこれを翻訳すると同時に、日本で利用する際に必要な注釈や商品名を添えてデータベースとした。

(倫理面への配慮)

すでに何らかの形で発表された医薬品情報であり、患者等への影響から問題視される内容は含まれて

いない。

C. 研究結果

(I) 副作用情報

最終的に採択し、「CAPSULE」としてまとめたものをデータベース化してインターネット上に掲示した(図1)情報は約3000件であり、これを薬剤群別に示すと以下ようになる。

CAPSULE (医薬品・治療研究会)
海外副作用(症例)情報

CAPSULEは、医薬品・治療研究会(代表:別府宏園)発行のThe Informed Prescriber(邦名:正しい治療と薬の情報)誌に掲載されている、主に海外医学雑誌からの副作用に関する情報を集めたものです。本ページの収載のデータは、1986年から本年までの分です(ただし、1991-1997年分は今後収載予定)。本データ作成は、平成11年度厚生省科学研究に基づく実験の一環です。

CAPSULE全文検索

条件	検索語	検索範囲	検索タイプ
	<input type="text"/>	ページ全体 <input checked="" type="checkbox"/>	フレーズ <input checked="" type="checkbox"/>
AND <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text"/>	ページ全体 <input checked="" type="checkbox"/>	フレーズ <input checked="" type="checkbox"/>
AND <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text"/>	ページ全体 <input checked="" type="checkbox"/>	フレーズ <input checked="" type="checkbox"/>
AND <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text"/>	ページ全体 <input checked="" type="checkbox"/>	フレーズ <input checked="" type="checkbox"/>

CAPSULEを含めた「医薬品緊急安全性情報 複合検索」は、[こちら](#)から利用可能です。

最近のCAPSULEから(2000年7-8月分)

- プピバカイン(マーカイン)の硬膜外麻酔と低血糖
- クロザピンによる悪性症候群
- クロザピンと耳下腺炎、血小板減少およびリンパ球減少
- ラミブジン(エビビル)による接触性皮炎
- タモキシフェン(カルパテックス)と子宮内膜の中胚葉性混合腫瘍
- シタラピン(キロサイド)による視力障害
- フルコナゾール(ジフルカン)による好中球減少
- ガンシクロビル(デノン)による精神障害と錯乱

図1 副作用情報「CAPSULE」の検索画面

1. 呼吸器系	33 (1.1%)	9. ビタミン類	35 (1.2%)
気管支拡張剤等	33		
2. 心・循環器系	328 (11.1%)	10. 抗ガン剤	255 (8.6%)
ACE 阻害剤	81	11. 免疫抑制剤	86 (2.9%)
Ca 拮抗剤	72	12. 病原微生物薬	603 (20.4%)
降圧利尿剤	31	抗生剤・抗菌剤	373
β 遮断薬	28	抗結核薬	44
AT2 拮抗剤	4	抗ウイルス薬	94
抗不整脈薬	70	抗真菌薬	84
強心剤	20	抗原虫・寄生虫薬	8
血管拡張剤	13		
その他	9		
3. 消化器系	207 (7.0%)	13. 生物学的製剤	354 (11.9%)
H2 拮抗剤	62	ワクチン	64
プロトンポンプ阻害剤	54	血液製剤	13
その他の消化器薬	87	インターフェロン	188
肝臓薬	4	インターロイキン	28
4. 抗炎症・鎮痛剤	143 (4.8%)	G-CSF	40
NSAIDs	119	エリスロポエチン	14
その他の鎮痛剤	24	その他	7
5. 向精神薬・鎮静薬	242 (8.2%)	14. 血液・体液用薬	120 (4.0%)
鎮静剤	28	抗凝固薬・止血薬	112
抗精神病薬	109	その他	8
抗うつ薬	105	15. 抗アレルギー薬	61 (2.1%)
6. 神経系薬	168 (5.7%)	16. ホルモン製剤	140 (4.7%)
脳代謝・循環改善剤	15	ホルモン	86
抗てんかん薬	95	ステロイド剤	41
抗パーキンソン薬	30	避妊薬	13
その他	28	17. 造影剤	29 (1.0%)
7. 麻酔薬・麻薬	34 (1.1%)	18. 漢方薬・ハーブ	30 (1.0%)
8. 代謝性薬剤	210 (7.1%)	19. その他	105 (3.5%)
糖尿病薬	69		
抗高脂血症薬	69	計	2,963 (100.0%)
その他	72		

以上のうち、薬物相互作用に関する情報は305件であった。また最近は、生物学的製剤、代謝性医薬品、向精神薬などに関する情報が増加しており、臨床的関心と重要性の変化を反映している。「薬のガイド」と「CAPSULE」のインターネットへのアクセス数は表1の通りである。

(II) 妊婦への安全情報

オーストラリアでリスク評価の対象となったのは一般名で約793種類の医薬品であり、これは日本で承認されている医薬品の33%をカバーしている。今回のデータベース作成に当たっては、これらに対応する国内商品名約1000種類を追加した。

表1 「薬のガイド」と「CAPSULE」のインターネットへのアクセス数

CAPSULE および薬のガイドの過去1年間におけるアクセス数			
	CAPSULE(海外副作用文献情報) /capsule/	薬のガイドのトップページ /tipdb/	薬のガイドの検索ページ(商品名) /tipdb/SHOHIN.php3
2000年1月		休止	休止
2月		休止	休止
3月		休止	休止
4月		(再開始)7	7
5月	(開始)23	1365	4410
6月	86	1668	12032
7月	194	7845	18562
8月	254	13567	26973
9月	151	14260	32597
10月	217	15397	31303
11月	404	14849	45497
12月	312	14787	35483

D. 考察

医薬品等に関する副作用情報は年々増加している。これは必ずしも副作用発生数の増加を意味するものではなく、むしろ医療関係者、患者および一般社会の副作用に対する関心の増大を反映しているものと解すべきであろう。しかし、こうした副作用情報の増加が医療の安全性を高める方向に実際に役立つためには、これらの情報の処理や情報へのアクセスが随時かつ容易に行われる必要がある。医療用データベースの充実やインターネットなどの電子媒体の普及が求められている理由もまた、この点にある。

今回検索した情報を年次別に眺めてみると、新しい疾病概念の成立や、新しい作用機序の薬が登場するにつれて、副作用情報の種類、頻度、内容も大幅に変化していることがわかる。また、以前にくらべれば、単剤による副作用よりも、他剤との薬物相互作用が関係した副作用情報が増加している。こうした変化にともなって、副作用情報の選択基準をみなおしたり、情報提供の方法にも工夫をこらす必要がある。

E. 結論

1986～2000年の15年間の医薬品等副作用情報を検索し、その内容や薬剤群ごとの頻度を調査した。ま

た、妊婦向けのリスク情報としては、オーストラリア医薬品評価委員会が作成している基準をもとに妊娠中の使用に関するリスクに応じた医薬品の分類と、それぞれの薬に対応する商品名を対応させたデータベースを作成した。