

200400209A

厚生労働科学研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

トキシコゲノミクス分野

トキシコプロテオミクス：ABCトランスポーターの  
遺伝子発現と薬物相互作用の解析に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 石川 智久

平成17(2005)年4月

## 目 次

### I. 平成 16 年度総括研究報告

- トキシコプロテオミクス：ABCトランスポーターの遺伝子発現と  
薬物相互作用の解析に関する研究 . . . . . 1  
石川 智久

### II. 平成16年度分担研究報告

1. ABC トランスポーターの医薬品、化学物質に対する薬物相互作用  
スクリーニング . . . . . 5  
石川 智久
2. ABC トランスポーターの遺伝子発現プロファイリング . . . . . 12  
油谷 浩幸
3. 医薬品・化学物質のデータベース化に関する研究 . . . . . 18  
中田 琴子

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . . 22

## I. 平成 16 年度総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
(萌芽の先端医療技術推進等研究事業：トキシコゲノミクス分野)  
総括研究報告書

トキシコプロテオミクス：ABCトランスポーターの遺伝子発現と薬物相互作用の解析に関する研究

主任研究者 石川智久 東京工業大学 大学院生命理工学研究科 教授

研究要旨

本プロジェクトで開発した高速スクリーニング装置を用いて、ABCG2 薬物相互作用を測定した。そのデータを基に Chemical Fragmentation Codes を用いた構造活性相関の定量的解析を行ない、薬物相互作用を予測する技術確立した。さらに胆汁鬱滞に関係する ABCB11 阻害を高速測定するスクリーニング系を構築した。日本人由来 EBV 不死化リンパ球34株の発現プロファイルによりABCトランスポーター遺伝子の発現の個人差について検討したところ、遺伝子発現に個人差が認められた。また、マイクロアレイ解析について決定木を用いたマイニング手法について検討した。一方 *in silico* 探索により LXR、PPAR、HNF4 $\alpha$  について標的遺伝子とその応答配列の位置を探索した。さらに、医薬品や毒性研究の情報基盤整備のために、医薬品や内分泌かく乱化学物質等の体内標的として酵素やトランスポーターに関する種々のデータを収集整理してデータベース化した。

分担研究者

石川智久	東京工業大学 大学院生命理工学研究科	教授
油谷浩幸	東京大学 国際産学共同研究センター	教授
中田琴子	国立医薬品食品衛生研究所	室長

トランスポーター遺伝子の 5'-プロモーター領域の解析を行い、転写制御因子を予測する。  
(2) 薬物輸送に関与するヒト ABC トランスポーターの基質特異性スクリーニングと発現プロファイリングに基づき、ヒト組織における薬物相互作用を予測する。  
(3) 既存の医薬品および化学物質に対する薬物トランスポーターの基質特異性をデータベース化し、薬物相互作用の予測プログラムを開発する。

A. 研究目的

薬物の副作用をひきおこす1つの原因として薬物トランスポーターでの薬物相互作用の寄与は大きいと考えられ、迅速に予測する方法が早急に求められている。また、薬の長期投与の場合、薬物トランスポーター発現レベルの変動が、薬物体内動態の変化を促し、副作用の原因となる可能性がある。したがって、薬物トランスポーター、特に ABC トランスポーターの遺伝子発現のプロファイリングと制御機構の解明が必要である。本研究の目的は、既存の医薬品の薬物相互作用に関与する薬物トランスポーターを同定し、その薬物トランスポーターの基質特異性に基づいて副作用を予測する技術を開発することである。具体的には次の通りである：

(1) ヒト組織に特異的に発現する薬物トランスポーターの定量的発現プロファイリングを行う。また、ヒトゲノムデータに基づき ABC

B. 研究方法

薬物トランスポーターの基質スクリーニング  
(石川)

ヒト ABC トランスポーター cDNA をクローニングし、BAC-TO-BAC バキュロウイルス発現系を用いて、それぞれ昆虫細胞に発現させる。発現した Sf9 細胞の形質膜を用いて、基質特異性スクリーニングを行う。そのデータに基づいて構造活性相関を解析する。また、ヒトのゲノムデータに基づき ABCトランスポーター遺伝子の 5'-領域の解析を行い、転写制御因子の結合部位を探索してデータベース化する。さらに、DNA チップ法と定量的 PCR 法を組み合わせ、ヒト ABC トランスポーター遺伝子の発現プロ

ファイリングを行い、プロモーター解析データと関連づける。

### 薬物トランスポーター発現解析用マイクロアレイ (油谷)

トランスポーター遺伝子の臓器特異的な発現プロファイルおよび薬剤投与時や種々の病態に際しての発現の変動をモニタリングするために、高感度な三次元マイクロアレイシステムを用いて DNA チップの作成を行う。選択的スプライシング産物についても特異的なプローブ配列をデザインすることにより検出が可能である。ヒトおよびラット、マウスのアレイを用いて輸送蛋白遺伝子以外に代謝酵素などの薬物動態関連遺伝子についても解析する。さらに遺伝子発現解析による毒性予測プログラムを開発する。

### 医薬品および化学物質に対する基質特異性および薬物相互作用データベースの作成 (中田)

これまで受容体データベースや CYP による薬物相互作用予測データベースを開発している。これらの経験をもとに医薬品や化学物質に対する体内標的 (受容体、酵素、トランスポーター等) の特異性を究明し、薬物相互作用について様々な角度からデータ収集・整理して統合的な薬物相互作用データベースを開発する。トランスポーターに関するデータを収集・整理したデータベースの開発および SNP と病気との関連について情報収集する。

#### (倫理面への配慮)

ヒト ABC トランスポーター遺伝子の Sf9 昆虫細胞における発現実験については、東京工業大学組み換え DNA 実験安全委員会に実験計画を2000年4月に提出して承認を得ている。またトランスポーターの発現解析には、東京大学国際産学共同センターの倫理委員会の承認を得て、「同意文書」に署名した人の連続不可能匿名化されたサンプルを用いる。本研究プロジェクトにおいては、既に EBV を用いて不死化したリンパ球細胞を遺伝子発現プロファイリングのサンプルとして用いる。

## C. 研究結果

### ABC トランスポーターの薬物相互作用解析のハイスループット化 (石川分担)

昆虫細胞発現系と、96well プレートを用いた ATPase 活性測定の高速スクリーニング系を用いて、新規 ABC トランスポーター ABCG2 の薬

物相互作用を測定する方法を確立した。既存の医薬品約40種類 (Caチャンネル阻害剤、Kチャンネル開口剤、ステロイド剤、非ステロイド系抗炎症剤、抗癌剤、抗生物質)らで検証するために、胆汁酸輸送に関与するヒト ABCB11 の薬物スクリーニング系を構築した。ABCB11 の cDNA をヒト肝臓からクローニングし、BAC-TO-BAC バキュロウイルス発現系を用いて昆虫細胞に発現させた。発現した Sf9 細胞の形質膜を用いて、<sup>14</sup>C]タウロコール酸を基質として薬物相互作用スクリーニングを行う *in vitro* 方法を確立した。

### 薬物/化学物質によるABCトランスポーター遺伝子の発現誘導 (石川分担)

tBHQ をはじめとするキノン化合物の投与によりヒト肝癌細胞 HepG2 細胞株において、ABC トランスポーター ABCC1 の発現を誘導させた。ABCC1 遺伝子のプロモーター解析結果に基づいて、発現誘導における AP-1 と ARE の関与を実験的に検証した。その結果、Nrf2 の核内移行とそれによる ABCC1 の発現誘導を確認した。

### ABC トランスポーター遺伝子の発現量多様性の解析 (油谷分担)

UniGene (Build Hs#163) の中から、ABC 輸送体遺伝子の各ファミリーを「遺伝子」名が "ABC\*"、"TAP\*" で検索し、ノイズを除いた48 遺伝子を選出した。CodeLink アレイ (ヒト10K) の Probe リスト (ACC#) とリンクさせて、上記の中から29 遺伝子の発現プロファイルが得られた。検体は EBV で株化したリンパ球 (男女各17 例、計34例) について RNA を抽出し、T7 ポリメラーゼにより cRNA を合成、biotin 標識し、CodeLink Human Whole Genome Bioarray (Amersham) を用いて遺伝子発現プロファイルを測定した。当アレイはヒト遺伝子53,423 プローブ (EST 含む) を網羅した遺伝子発現解析用マイクロアレイであり、ヒト ABC トランスポーター遺伝子48種類すべてに対して、重複を含み88 プローブが搭載されている。ヒト ABC 輸送体遺伝子のうち、発現変動のあるものが10 遺伝子 (12 プローブ)、特に ABCA6、ABCA12、TAP2 (ABCB3) については顕著な発現変動が見られた (表1)。発現値の高い順に並べてグラフを描いた場合、発現値の分布が段階的になっているように見られる。また、頻度分布を見ると、高・中・低 発現の3 グループに分かれる傾向が見られた (図3)。これら発現量にばらつきが見られた ABC 遺伝子においては、プロモーター領域にある遺

伝子多型との関係が示唆された。

#### 薬物投与後時系列データの解析アルゴリズムの開発 (油谷分担)

ラットに85種類の化合物を連日投与し、1、3、7、14、28日目の肝臓の遺伝子発現プロファイルをAffymetrix社製RGU34Aマイクロアレイ(8,800ProbeSet)によって採取したものである。この時系列データを使って、化合物投与後のパスウェイの遺伝子発現変動を数値化する方法を開発した。決定木によるデータマイニングを実行したところ、およそ80%の正答率が得られ、単純に遺伝子を説明変数としたときを上回るものとなった。また、発癌性のある化合物とそうでないものを分ける説明変数の主なものを探索同定した。

#### 医薬品等化学物質の結合親和性についてデータベース化 (中田分担)

医薬品や化学物質に対する体内標的(受容体、酵素、トランスポーター等)の特異性を究明する一方、トランスポーターに関するデータを収集/整理したデータベースの開発ならびにSNPと疾患との関連情報の収集を実施し、核内受容体/膜受容体とそのリガンドである医薬品等化学物質の結合親和性についてデータベース化して公開した。核内受容体タンパク質30種、医薬品等化学物質4718、Ki値3500を含む。酵素/トランスポーターデータベースについてもプロトタイプを構築した。近年SXR、LXR、FXR、PPAR等の核内受容体に対するリガンドがCYPやABCトランスポーターを誘導することが報告されている。核内受容体の標的遺伝子の*in silico*探索とそれらが関与するパスウェイについて解析し、関連する生活習慣病の治療や予防に関する情報基盤を試した。医薬品を薬効別に分類した標的データベースDTBTCを更新し、Web公開した<http://molddb.nihs.go.jp/tgdb/>。個々の医薬品の3次元構造については東京薬科大学薬学部土橋研究室で開発・公開している「3次元医薬品構造データベース(3DPSD)」にリンクした。医薬品の標的については、東京大学生産技術研究所の戦略ソフトウェア「タンパク質—化学物質相互作用」プロジェクト内で開発した標的データベースKiBankにリンクした。

#### D. 考察

#### 薬物輸送に関与するABCトランスポーターの薬物相互作用スクリーニング

本研究において、研究代表者のグループが開発したABCトランスポーターの高速スクリーニングシステムは、既存の医薬品がどの薬物トランスポーターの基質または阻害剤になるかという定量的データを提供し、組織毎の薬物相互作用の予測に貢献する。特に、ABCB11(BSEP)の発現細胞膜を用いた*in vitro*スクリーニング方法は、胆汁鬱滞を引き起こしうる医薬品候補化合物を、創薬のリード最適化の段階で発見するのに約に立つと考えられる。また、ABCG2の異常は、遺伝的光過敏症やprotoporphyrin発症のリスクが、Abcg2ノックアウトマウスの実験から示唆されている。我々は、ABCG2における薬物相互作用を調べるために、神経伝達物質、Caチャンネル阻害剤、Kチャンネル開口剤、非ステロイド系抗炎症剤、抗癌剤、抗生物質、免疫抑制剤より43種類の化合物を選択して阻害スクリーニングを行い、構造活性相関の解析を行った。分子構造を表すケミカルフラグメントコード(Chemical Fragmentation Code, CFC)を用いた定量的構造活性相関(QSAR)の解析方法を開発した。この新規解析方法を用いた応用例として、ABCG2の抗癌剤イレッサに対する薬物相互作用を予測した結果、濃度10µMでイレッサはABCG2の輸送機能を70%以上阻害することが予測された。そして、この予測結果は、ABCG2に対するイレッサの阻害実験、およびイレッサとの併用におけるイリノテカンの体内動態および制癌効果への影響等の報告と良い一致をみる。

#### ABCトランスポーター遺伝子の発現量多様性の解析

本研究において、ヒトABC輸送体遺伝子のうち発現変動のあるものが10遺伝子(12プローブ)、特にABCA6、ABCA12、TAP2(ABCB3)については顕著な発現変動が見られた。個人間で発現変動があることから、遺伝子多型やエピジェネティックな個人差がある可能性がある。例えば、常染色体上に高発現アレル”H”と低発現アレル”L”が存在し、HH・HL・LLという組み合わせで其々、高・中・低発現のグループに対応することが考えられる。或いはもっと複雑な多型の組み合わせにより発現に影響している可能性もある。本研究プロジェクトで、研究代表者らはヒトABCトランスポーター遺伝子のプロモーター解析をし、その結果をWebに公開した(<http://www.humanABC.bio.titech.ac.jp/>)。そ

のデータと、網羅的な遺伝子多型 (SNPアレイなど) のデータを組み合わせることによって、プロモーター領域における遺伝子多型と発現レベルとの関係をリンクすることが可能となる。したがって、今後 ABCトランスポーター遺伝子の発現プロファイルを統合的に解析し、発現差を生み出す遺伝的要因を今後さらに探索する計画である。

#### 医薬品および化学物質に対する基質特異性および薬物相互作用データベース

標的データベース中の医薬品については、日本の医薬品 (JAN) のみでなく米国 (USP) および英国 (BP) の医薬品も含めた。標的については酵素やトランスポーターについても更新した。酵素やトランスポーターの3次元構造はまだ数が少ないがPDB等でデータが公開されたものは順次最適化構造を記載している。

受容体とリガンドの結合親和性について、Inhibition constant (Ki値)、解離定数 (Kd値、Km値)、Relative binding affinity (RBA)などが用いられているが、異なる論文間での比較を可能にするため、Ki値を採用した。標的遺伝子の*in silico*探索を行い、PPAR、LXR、HNF4αについて標的遺伝子とその応答配列の位置を探索したところ標的遺伝子の候補数は多数あったが、GOやBODY MAP情報から絞り込みが可能であった。実際に機能するか否かは実験により確かめる必要がある。

#### E. 結論

本研究からは、ヒトの ABCトランスポーターの薬物に対する基質特異性データベースが得られ、かつ薬物トランスポーター遺伝子の発現プロファイル・データが得られた。研究代表者のグループが開発した ABCトランスポーター高速スクリーニングシステムは、既存の医薬品がどの薬物トランスポーターの基質または阻害剤になるかという定量的データを提供し、組織毎の薬物相互作用の予測に貢献するであろう。また、トキシコゲノミクスの手法として注目されているマイクロアレイ解析について決定木を用いたマイニング手法について検討した。薬物を投与したラット肝遺伝子発現プロファイルの時系列データについて、遺伝子セットを説明変数とする決定木の手法により、より高い正答率が得られた。日本人由来 EBV 不死化リンパ球34株の発現プロファイルにより ABCトランスポーター遺伝子の発現の個人差について検討したところ、

一部の遺伝子に発現の個人差が認められた。ヒト ABCトランスポーターの遺伝子発現プロファイルリングによって、発現量にばらつきの見られる ABC 遺伝子が認められる事実は、プロモーター領域にある遺伝子多型との関係を示唆する。このことは、薬剤応答性/薬剤体内動態における個人差を解析する上で重要な情報となるであろう。本研究プロジェクトは、薬物トランスポーターの観点から薬物の副作用を予測する技術を開発することに目標をおいた。最終年度において当初の目標をほぼ達成するとともに、次に発展させるべき基盤技術を確立することができた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
(分担研究者の項参照)

2. 学会発表  
(分担研究者の項参照)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
SNPの機ABCトランスポーター能解析：出願予定

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

## Ⅱ. 平成 16 年度分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
(萌芽的先端医療技術推進等研究事業：トキシコゲノミクス分野)

分担研究報告書

ABCトランスポーターの医薬品、化学物質に対する  
薬物相互作用スクリーニングに関する研究

分担研究者 石川智久 東京工業大学 大学院生命理工学研究科 教授

研究要旨

ABCG2 の薬物相互作用に関して、我々が開発した高速スクリーニング装置を用いて定量的に解析した。実測データを基に Chemical Fragmentation Codes を用いた構造活性相関解析を行い、ABCG2 を阻害するうえで重要な構造的因子を同定した。そのアルゴリズムに基づいて、チロシンキナーゼ阻害剤と ABCG2 との薬物相互作用を予測した。さらに、胆汁酸輸送に関与する ABCB11 をヒト肝臓 cDNA ライブラリーよりクローニングし、昆虫細胞に発現させた。ABCB11 の阻害を高速測定するスクリーニング系を構築し、医薬品や化合物による胆汁鬱滞を予測する技術を確立した。また tBHQ を含むキノン化合物によるヒト ABCC1 (MRP1) の発現に Nrf2 の核内移行とプロモーター ARE が関与していることを確認した。

A. 研究目的

薬物代謝物を迅速に細胞外へ排泄することは、薬物の副作用を低下させる上で非常に重要である。またさらに薬物トランスポート過程での薬物相互作用や薬物による遺伝子発現誘導を回避する分子デザインも創薬戦略の1つであると考えられる。近年になって、数多くの薬物トランスポーターが小腸や腎臓の上皮細胞、肝細胞、脳血管内皮細胞に発現し、薬物の輸送に関与していることが明らかになってきた。薬物トランスポーターの基質特異性とその薬物動態上の意義を定量的に解析する事は、ポストゲノム時代における合理的な創薬分子設計戦略と副作用の低下(安全性の向上)に大きく貢献するものと考えられる。本研究プロジェクトにおいて我々は、薬物トランスポーターの観点から薬物の副作用を予測する技術を開発することに目標をおく。本年度の具体的な目標は：(1) 薬物輸送に関与するヒトABCトランスポーターの基質特異性スクリーニングを構築する。(2) 既存の医薬品および化学物質に対するABCトランスポーターの特異性をデータベース化し、薬物相互作用の予測プログラムを開発する。転写領域の解析と発現プロファイリングに基づ

き、薬物相互作用を予測する。

B. 研究方法

ABCG2 (BCRP) の薬物相互作用における構造活性相関の定量的解析

本プロジェクトで我々が開発した96wellプレート高速スクリーニング系を用いて、ABCG2 (BCRP) の基質特異性の構造活性相関を解析した。具体的には、Sf9 昆虫細胞にウイルスを感染させて ABCG2 タンパク質を発現させた。ABCG2 の発現は特異的抗体を用いたウエスタンブロットで確認した。その細胞から形質膜ベシクルを調製して、<sup>3</sup>H ラベルした抗癌剤メソトレキセートの輸送能力を指標にして、ABCG2 における薬物相互作用を調べた。そのデータを基に、Chemical Fragmentation Codes を用いた構造活性相関の定量的解析を行った。

ABCB11 (BSEP) における薬物相互作用解析：高速スクリーニング装置開発

ヒトABCB11 cDNA を PCR によりクローニングし、pFastBac ベクターに組み込んだ。次いでそのベクターから発現用バキュロウイルスを作成し、Sf9 昆虫細胞にウイルスを感染させて

ABCB11 タンパク質を発現させた。ABCG2 の発現は特異的抗体を用いたウエスタンブロットで確認した。その細胞から形質膜ベシクルを調製して、<sup>14</sup>C ラベルしたタウロコール酸の輸送能力を指標にして、ABCB11 における薬物相互作用を調べた。ABCB11 による ATP-依存性タウロコール酸の輸送能力と薬物相互作用を効率良く測定するために、我々が昨年度開発した高速スクリーニング装置を応用し、市販の医薬品との薬物相互作用を検討した。

### キノン化合物による ABCC1 遺伝子発現の誘導とその分子機構の解明

tBHQ をはじめとするキノン化合物の投与によりヒト肝癌細胞 HepG2 細胞株において、ABCトランスポーター ABCC1 の発現を誘導させた。ABCC1 遺伝子のプロモーター解析結果に基づいて、発現誘導における AP-1 と ARE の関与を実験的に検証した。その結果、Nrf2 の核内移行とそれによる ABCC1 の発現誘導を確認した。

#### (倫理面への配慮)

ヒト ABCトランスポーター遺伝子の Sf9 昆虫細胞における発現実験については、東京工業大学組み換え DNA 実験安全委員会に実験計画を2000年4月に提出して承認を得ている。

## C. 研究結果

### ABCトランスポーター ABCG2 の薬物相互作用を定量的に解析する方法

本研究プロジェクトで構築された昆虫細胞発現系と高速スクリーニング系を用いて、ABCトランスポーター ABCG2 の薬物相互作用を定量的に解析する方法を確立した。薬物相互作用を調べるために、神経伝達物質、Ca チャンネル阻害剤、K チャンネル開口剤、非ステロイド系抗炎症剤、抗癌剤、抗生物質、免疫抑制剤より43種類の化合物を選択して阻害スクリーニングを行い、構造活性相関の解析を行った。分子構造を表すケミカルフラグメントコード (Chemical Fragmentation Code, CFC) を用いた定量的構造活性相関 (QSAR) の解析方法を開発した。試験化合物の構造式を Markush TOPFRAG ver3.1 に入力し、Chemical Fragmentation Code を発生させた。Chemical Fragmentation Codes は構成

元素、環構造、官能基、環と環の結合や炭素鎖を表すグループで構成されており、Markush TOPFRAG ではこれらに加え、入力構造に含まれない部分を指定するための Negation CODE が付与される。試験化合物濃度 10 μM における阻害 % を目的変数とし、ケミカルフラグメントコードの有無をダミー変数として線形重回帰を行った。その結果、阻害 % に関して、実測値と予測値に良い相関関係が得られた (図1)。構造活性相関のデータから、ABCG2 は水酸基をもつ融合型ヘテロ環に対して特異性を持つことが明らかになった。

### 胆汁酸輸送に関与する ABCB11 の薬物相互作用解析のハイスループット化

ABCB11 の cDNA をヒト肝臓からクローニングし、BAC-TO-BAC バキュロウイルス発現系を用いて Sf9 昆虫細胞に発現させた。ABCB11 の発現は、特異的抗体 (C-219) を用いたウエスタンブロットで確認した。この発現細胞の形質膜を用いて、膜ベシクルを調製し、<sup>14</sup>C タウロコール酸を基質として ABCB11 の輸送機能を測定した。ATP-依存の胆汁酸輸送機能を膜ベシクルが持つことから、ヒト ABCB11 の薬物スクリーニング系を構築した。96-well Multi-Screen プレートを用いた高速スクリーニング系で、市販の医薬品43種類との薬物相互作用を検討した結果、ニカルジピン、ニフェジピン、FK506 が ABCB11 のタウロコール酸輸送を弱く阻害することが解った。一方、他の市販薬では阻害が観測されなかった。今後、ABCB11 の薬物相互作用を予測するアルゴリズムを確立する計画である。

### 薬物/化学物質による ABCトランスポーター遺伝子の発現誘導

ヒト肝臓癌細胞株 HepG2 を種々のキノン化合物とインキュベートし、ABCC1 遺伝子発現の誘導をウエスタンブロットにより確認した。我々のプロモーター解析により、ABCC1 遺伝子の 5'-上流に ARE (antioxidant response element) の存在が確認されたので、核および細胞質画分を調製し特異的抗体により Nrf2 の局在状態を検出した。その結果、キノン化合物による ABCC1 の誘導と Nrf2 の核内移行とがシンクロナイズしており、キノン化合物濃度に依存

することが明らかになった。この結果は、ABCC1 遺伝子の発現誘導に ARE が関与していることを強く示唆し、我々のプロモーター解析結果を裏付ける実験的証拠となった。

#### D. 考察

##### 薬物輸送に関与する ABCトランスポーターの薬物相互作用スクリーニング

ABCG2 の阻害による皮膚の光過敏症や protoporphyria 発症のリスクが、Abcg2ノックアウトマウスの実験から示唆されている。我々は、ABCG2 における薬物相互作用を調べるために、神経伝達物質、Caチャンネル阻害剤、Kチャンネル開口剤、非ステロイド系抗炎症剤、抗癌剤、抗生物質、免疫抑制剤より43種類の化合物を選択して阻害スクリーニングを行い、構造活性相関の解析を行った。分子構造を表すケミカルフラグメントコード (Chemical Fragmentation Code, CFC) を用いた定量的構造活性相関 (QSAR) の解析方法を開発した。この新規解析方法を用いた応用例として、ABCG2 の抗癌剤イレッサに対する薬物相互作用を予測した結果、濃度10  $\mu\text{M}$  でイレッサは ABCG2 の輸送機能を70% 以上阻害することが予測された。そして、この予測結果は、ABCG2 に対するイレッサの阻害実験、およびイレッサとの併用におけるイリノテカンの体内動態および抗癌効果への影響等の報告と良い一致をみる。

また、創薬の探索開発段階において、肝臓毒性は良く見られるが、その原因の1つに胆汁鬱滞がある。本研究プロジェクトにおいて我々は ABCB11 (BSEP) の *in vitro* スクリーニング方法を確立した。この方法は、胆汁鬱滞を引き起こしうる医薬品候補化合物またはその代謝物を創薬の初期段階で発見するのに役に立つと考えられる。以上、研究代表者のグループが開発した ABCトランスポーターの高速スクリーニングシステムは、既存の医薬品がどの薬物トランスポーターの基質または阻害剤になるかという定量的データを提供し、組織毎の薬物相互作用の予測に貢献するであろう。

##### ABCトランスポーター ABCC1 の誘導機構

ABCC1 (MRP1) は、機能面で細胞内 GSH と関連しているだけでなく、その遺伝子発現もま

た細胞内グルタチオンの生合成と密接に関わっている。細胞にシスプラチン、ヒ素、カドミウム、亜鉛のような重金属を作用させることにより、ABCC1 遺伝子が誘導されると同時に  $\gamma$ -GCS 遺伝子も誘導されることを我々は世界で初めて報告した。細胞にこれらの重金属を48時間作用させることにより、ABCC1 及び  $\gamma$ -GCS の mRNA レベルは、定常状態と比較して3倍から8倍増加する。同様の結果は、ヒト脳腫瘍細胞に ACNU を作用させることによっても得られた。我々のプロモーター解析により、ABCC1 と  $\gamma$ -GCS 遺伝子の 5'-プロモーター領域には ARE と AP-1 結合部位が共通しており、これが転写制御に関係していると推測されていた。TBHQ を含むキノン化合物は、細胞内で酸素との電子授受を媒介して活性酸素種を発生する。細胞質中にある Keap1 蛋白質と活性酸素種が反応することにより Nrf2 が Keap1 蛋白質から離れ核内に移動し、標的遺伝子の転写を活性化することが報告されている。本研究で、ABCC1 の発現誘導機構に ARE と Nrf2 が関与していることが強く示唆された。今後 RNAi 法を用いて Nrf2 のノックダウンを行って、我々の仮説を検証する計画である。

#### E. 結論

本研究からは、ヒトのABCトランスポーターの薬物に対する基質特異性データベースが得られ、かつ薬物トランスポーター遺伝子の発現データが得られた。研究代表者のグループが開発した ABC トランスポーター高速スクリーニングシステムは、既存の医薬品がどの薬物トランスポーターの基質または阻害剤になるかという定量的データを提供し、組織毎の薬物相互作用の予測に貢献するであろう。本研究プロジェクトは、薬物トランスポーターの観点から薬物の副作用を予測する技術を開発することに目標をおいた。最終年度において当初の目標はほぼ達成され、次に発展させるべき基盤技術を確立することができた。

#### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ishikawa, T., Sakurai, A., Kanamori, Y., Nagakura, M., Hirano, H., Takarada, Y., Yamada, K., Fukushima, K., and Kitajima, M. High-speed screening of human ABC transporter function and genetic polymorphisms: New strategies in pharmacogenomics. *Methods in Enzymol.*, in press, 2005
- 2) Ishikawa, T., Tamura, A., Saito, s., Wakabayashi, K., and Nakagawa, H. Pharmacogenomics of the human ABC transporter ABCG2: from functional evaluation to drug molecular design. *Naturwissenschaften*, in press, 2005
- 3) Ishikawa, T., Ikegami, Y., Sano, K., Nakagawa, H., and Sawada, S. Transport mechanism-based drug molecular design: novel camptothecin analogues to circumvent ABCG2-associated drug resistance of human tumor cells. *Current Pharm. Design*, in press, 2005
- 4) Takahashi, T., Nakai, K., Doi, T., Yasunaga, M., Nakagawa, H., and Ishikawa, T. Synthesis and Evaluation of 3D Templates Based on a Taxane Skeleton to Circumvent P-glycoprotein-associated Multidrug Resistance of Cancer. *Bioorg. Medicin. Chem. Lett.* in press, 2005..
- 5) Kano M, Tsutsumi S, Kawahara N, Wang Y, Mukasa A, Kirino T, Aburatani H. A meta-clustering analysis indicates distinct pattern alteration between two series of Gene Expression profiles for induced ischemic tolerance in rats. *Physiological Genomics*. in press, 2005
- 6) Ishikawa, T. Pharmacogenomics in Drug Transporters: Functional Analysis of Genetic Polymorphisms. *Global Outsourcing Review*, 6(1), 28-33, 2004
- 7) Ishikawa, T., Onishi, Y., Hirano, H., Oosuni, K., Nagakura, M., and Tarui, S. Pharmacogenomics of Drug Transporters: A New Approach to Functional Analysis of the Genetic Polymorphisms of ABCB1 (P-Glycoprotein/MDR1). *Bio.Pharm. Bull.*, 27, 939-948, 2004
- 8) Ishikawa, T., Hirano, H., Onishi, Y., Sakurai, A., and Tarui, S. Functional Evaluation of ABCB1 (P-Glycoprotein) Polymorphisms: High-Speed Screening and Structure- Activity Relationship Analyses. *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 19, 1-4, 2004
- 9) Takayanagi, S., Kataoka, T., Ohara, O., Oishi, M., Kuro, M.T., and Ishikawa, T. Human ATP-binding cassette transporter ABCB1: expression profile and p-53-dependent upregulation. *J. Exp. Ther. Oncol.*, 4, 239-246, 2004
- 10) Yoshikawa, M., Ikegami, Y., Hayasaka, S., Ishii, K., Ito, A., Sano, K., Suzuki, T., Togawa, T., Yoshida, H., Soda, H., Oka, M., Kohno, S., Sawada, S., Ishikawa, T., and Tanabe, S. Novel Camptothecin Analogues that Circumvent ABCG2-associated Drug Resistance in Human Tumor Cells. *Int. J. Cancer*, 110, 921-927, 2004
- 11) Yoshikawa, M., Ikegami, Y., Sano, K., Yoshida, H., Mitomo, H., Sawada, S., and Ishikawa, T. Transport of SN-38 by the Wild Type of Human ABC Transporter ABCG2 and Its Inhibition by Quercetin, a Natural Flavonoid. *J. Exp. Ther. Oncol.*, 4, 25-35, 2004
- 12) Ishikawa, T., Tsuji, A., Inui, K., Sai, Y., Anzai, N., Wada, M., Endou, H., and Sumino, Y. The genetic polymorphism of drug transporters: functional analysis approaches. *Pharmacogenomics*, 5, 67-99, 2004

### 総説

- 1) 石川智久、櫻井亜季、大西裕子、中川大 癌の薬剤耐性機構解明から薬物トランスポーター遺伝子多型の臨床診断へ。BIO INDUSTRY 22<3>, 11-16, 2005
- 2) 石川智久 薬物トランスポーターのファーマコゲノミクスと薬物相互作用医学のあゆみ 213<3>, 印刷中, 2005
- 3) 石川智久 ヒトABCトランスポーターの遺伝子多型と薬物相互作用の解析：メンブレンを用いた高速スクリーニングシステムの開発. バイオテクノロジージャーナル, 5<3>, 印刷中 2005
- 4) 著書吉川恵美、伊藤明子、石川智久、池上洋二 ABCトランスポーターと薬剤応答性、癌と化学療法 31, 1-6, 2004
- 5) 石川智久 薬物トランスポーターの遺伝子多型機能解析. 実験医学 22<4>, 534-539, 2004

- 6) 石川智久 ヒト薬物トランスポーター遺伝子多型の機能解析からゲノム創薬と臨床診断への応用. 臨床検査 48<2>, 21-222, 2004
  - 7) 石川智久 薬物トランスポーター機能に迫る- 新しい創薬分子デザイン戦略. 化学 59<4>, 44-47, 2004
  - 8) 石川智久 ABCトランスポーター遺伝子多型の機能解析から創薬への応用. PharmaVISION NEWS COLL. 1<1>, 35-36, 2004
  - 9) 石川智久 ヒトABCトランスポーターの遺伝子多型解析からバイオテクノロジークラスター形成. 日本農芸化学会誌 5, 471-474, 2004
  - 10) 石川智久 ヒトABCトランスポーターのファーマコゲノミクス:新規遺伝子の発見と遺伝子多型の機能解析. 血液・免疫・腫瘍 9, 165-174, 2004
  - 11) 石川智久 特集:呼吸器pharmacogenomics ファーマコゲノミクス; overview THE LUNG perspectives 12<3>, 15-19, 2004
  - 12) 石川智久 がん治療における Pharmacogenomics- ABCトランスポーターの遺伝子多型と薬剤応答がん分子標的治療 2<3>, 29-36, 2004
  - 13) 石川智久 ファーマコゲノミクスの新しい挑戦:SNPの機能的実体に迫る!ファルマシア 40<8>, 724-728, 2004
  - 14) 石川智久, 遠藤仁, 乾賢一, 辻彰, 和田守正, 隅野靖弘 薬物トランスポーターのファーマコゲノミクス:SNPの機能実体に迫る! 蛋白質 核酸 酵素 49<12>, 2024-2034, 2004
  - 15) 石川智久 The 24<sup>th</sup> International Symposium of the Sapporo Cancer Seminar Foundation. がん分子標的治療 2<4>, 78-81, 2004
  - 16) 石川智久 ABCB1 (P-gp/MDR1)の遺伝子多型と機能解析高速スクリーニング. ゲノム医学 4<5>, 49-56, 2004
2. 学会発表
- 1) 石川智久 The 24th International Symposium of the Sapporo Cancer Seminar Foundation -Pharmacogenomics in Cancer Chemotherapy: Recent Advances in ABC Transporters and Genome "Analyses.Pharmacogenomics of Drug Transporters: From High-Speed Screening to Drug Molecular Design. 札幌(2004.6.21)
  - 2) 石川智久 第 31 回日本トキシコロジー学会 学術年会 “薬物トランスポーターのファーマコゲノミクス: SNPの機能的実体に迫る!”(2004.7.06 大阪)
  - 3) 石川智久 第 64 回日本癌学会総会、“ヒトABCトランスポーターのファーマコゲノミクス:基質特異性解析高速スクリーニングと創薬分子デザイン”(2004.9.30 福岡)
  - 4) 石川智久 Toxicogenomics International Forum “Pharmacogenomics of drug transporters:functional approach with high-speed screening and SAR analyses”(2004.10.12 京都)
  - 5) Ishikawa, T., Hirano, H., Nakagawa, H., Sakurai, A., Ohishi, Y., Saito, H., Tamura, A., Wakabayashi, K., Tarui, S., Oosumi, K., Nagakura, M., Ciloy, J.M., Kitajima, M. 第19回日本薬物動態学会年会 “High-speed Screening and QSAR-analysis Technologies for Functional Approach to Pharmacogenomics of ABC Transporters.” (2004. 11. 17 金沢)
  - 6) 石川智久 第19回日本薬物動態学会年会 “日本技術の復活! 薬物トランスポーターSNP解析の新戦略 (2004. 11. 17 金沢)
  - 7) Onishi, Y., Nakagawa, H., Sakurai, A., Doi, T., Takahashi, T., and Ishikawa, T. 第19回日本薬物動態学会年会 “Synthesis and Evaluation of Taxane derivatives to Circumvent ABCB1 (MDR1)-associated Drug Resistance. (2004. 11. 17 金沢)
  - 8) Sakurai, A., Onishi, Y., Hirano, H., Tarui, S., and Ishikawa, T. 第19回日本薬物動態学会年会 “Functional Profiling of the Mutation of Glycine 185 to Valine in ABCB1 (MDR1). (2004. 11. 17 金沢)
  - 9) Hirano, H., Saito, H., Nakagawa, H., Onishi, Y., Tarui, Y., and Ishikawa, T. 第19回日本薬物動態学会年会 “Structure-Activity Relationship Analysis for Drug-Drug Interactions of ABCG2” (2004. 11. 17 金沢)
  - 10) Saito, H., Hirano, H., Nakagawa, H., Tarui, S., Ikegami, Y., and Ishikawa, T. 第19回日本薬物動態学会年会 “ Structure-Activity Relationship (SAR) of Natural Flavonoids in the Inhibition of Human ABCG2-mediated SN-38 Transport” (2004. 11. 17 金沢)

- 11) Nakagawa, H., Aida-Hygaji, S., Saito, H., Ikegami, Y., Sawada, S. and Ishikawa, T. 第19回日本薬物動態学会年会 “Hydrozyl Group at Position 10 or in the A ring of SN-38 Analogues is Critical for ABCG2-mediated Transport” (2004. 11. 17 金沢)
- 12) Shirasaka, Y., Masaoka, Y., Kataoka, M., Sakuma, S., Sakane, T., Onishi, Y., Ishikawa, T., and Yamashita, S. 第19回日本薬物動態学会年会 “Kinetic Analysis on the Effect of P-glycoprotein on Oral Drug Absorption” (2004. 11. 17 金沢)
- 13) 石川智久 日本医薬品情報学会フォーラム、 “これからの薬物相互作用を考えるー薬物トランスポーターのファーマコゲノミクスからの視点” (2004.12.14 東京)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

ABCトランスポーターSNPの機能解析：出願予定

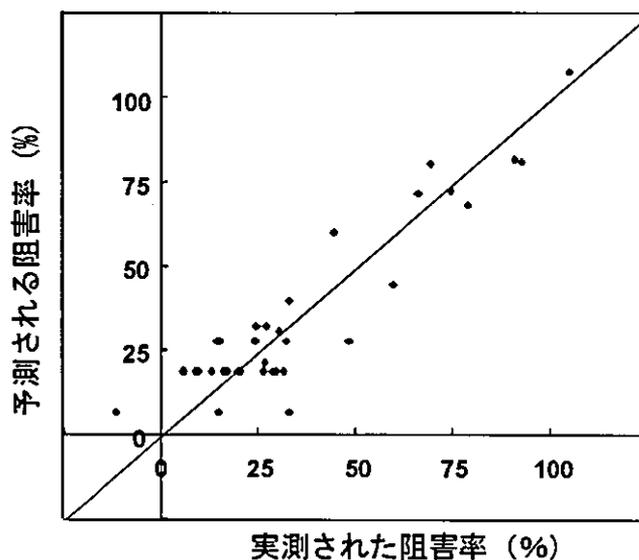
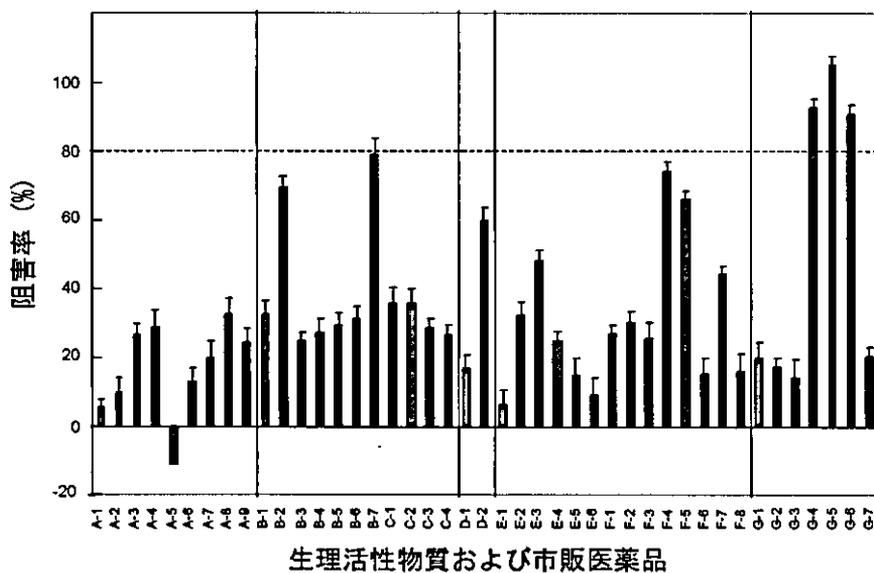
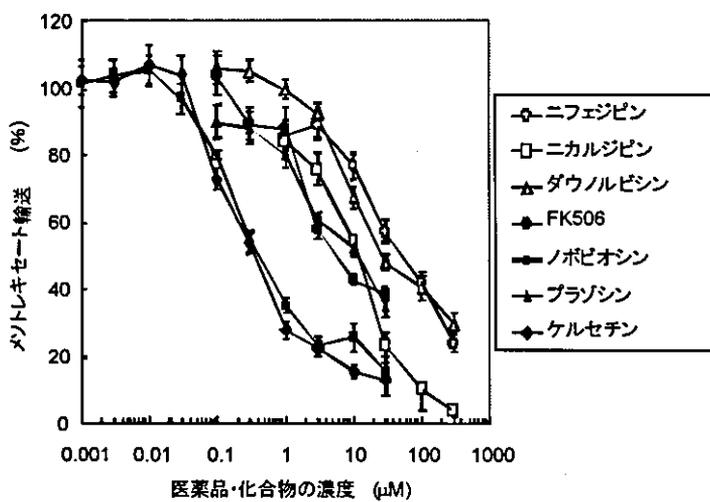
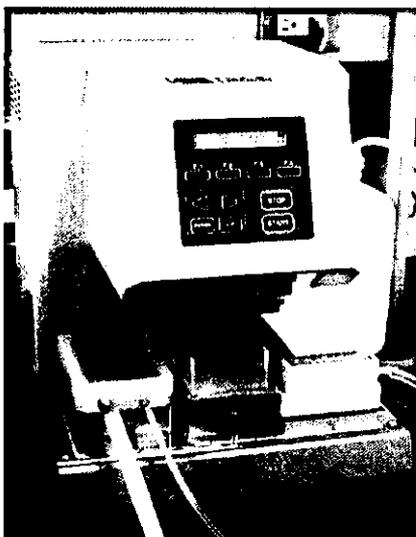
##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

図1 ABC トランスポーターの薬物相互作用高速スクリーニングと構造活性相関解析



厚生科学研究費補助金  
(萌芽的先端医療技術推進研究事業：トキシコゲノミクス分野)

分担研究報告書

ABC トランスポーターの遺伝子発現プロファイリングに関する研究

分担研究者 油谷浩幸 (東京大学国際・産学共同研究センター教授)

研究要旨

トキシコゲノミクスの手法として注目されているマイクロアレイ解析について決定木を用いたマイニング手法について検討した。薬物を投与したラット肝臓遺伝子発現プロファイルの時系列データについて、遺伝子セットを説明変数とする決定木の手法により、より高い正答率が得られた。日本人由来 EBV 不死化リンパ球 34 株の発現プロファイルにより ABC トランスポーター遺伝子の発現の個人差について検討したところ、一部の遺伝子に発現の個人差が認められた。

A. 研究目的

薬物代謝物を迅速に細胞外へ排泄することは、薬物の副作用を低下させる上で非常に重要である。またさらに薬物トランスポート課程での薬物相互作用や薬物による遺伝子発現誘導を回避する分子デザインも創薬戦略の1つであると考えられる。近年になって、数多くの薬物トランスポートターが各組織で発現し、薬物の輸送に関与していることが明らかになってきた。本研究は、薬物トランスポートターの発現変動に注目し、薬物の副作用を予測する技術を開発することに目標をおく。

ABC 輸送蛋白質は薬剤応答性の個人差の原因となる重要な分子ファミリーのひとつであり、変異や多型による ABC 輸送の蛋白質の機能異常などは近年その重要性から数多く報告がなされている。遺伝子発現に対して制御的なジェノタイプあるいはハプロタイプやエピジェネティックな個人差が有ると予想されるので、本研究では遺伝子発現レベルの変動をマイクロアレイ解析により検討し、ABC 輸送体遺伝子の個人間の発現差について考察した。

トキシコゲノミクスの手法として注目されているマイクロアレイ解析について、時系列データの解析アルゴリズムについての検討も引き続き進めた。化合物の毒性予測や、毒性のある化合物により特異的な変動を示す遺伝子群を抽出するために、様々な化合物を投与して1ヶ月ほどの期間に採取

されたラット肝臓の時系列遺伝子発現プロファイルを用いて、新たな解析アルゴリズムの開発を行った。薬物毒性のトレーニング情報としては、古典的な発癌試験結果を用いた。

B. 研究方法

薬物投与後時系列データの解析アルゴリズムの開発

今回解析に用いたデータは、ラットに 85 種類の化合物を連日投与し、1、3、7、14、28 日目の肝臓の遺伝子発現プロファイルを Affymetrix 社製 RGU34A マイクロアレイ (8,800ProbeSet) によって採取したものである。この時系列データを使って、化合物投与後のパスウェイの遺伝子発現変動を数値化する方法を開発した。

今回の解析に用いた遺伝子セットは、KEGG 28 種類、GenMAPP 57 種類、BioCarta 273 種類、Gene Ontology Biological Process 77 種類の合計 435 種類である。例として p53 の働きに関連する遺伝子を模式的にまとめたものを BioCarta より引用した (図1)。今回はこのように既知の一般的な生物学の知識を利用して遺伝子とその生物学的機能ごとにまとめ、遺伝子セットとした。

5 点で採取されたタイムポイントのデータは、それぞれの点で、コントロールとの log 比を取ることにより、5次元のベクトルデータになる。すなわち、このベクトルの原点からの距離をとれば、

変動の激しい遺伝子に大きな数値が割り当てられる。さらに、これら個別の遺伝子の動きをまとめて遺伝子セットに数値を割り当てる。遺伝子セットに含まれる個々の遺伝子の変動を前述の方法で数値化し、単純に平均して、その遺伝子セットの動きを表す新たな係数とした。

図2に決定木によるデータマイニングを模式的に説明した。化合物ごとに発癌性の有無(図では+/-)がわかっているものとして、各ステップではグループを最もよく分割する説明変数とその閾値を探してくる。マイクロアレイデータを解析する場合は、遺伝子とその発現値を説明変数と閾値にすればよい。正答率の評価は、Leave one out cross validation (LOOCV) 法を用いた。

#### ABC トランスポーターの遺伝子発現プロファイル解析

EB ウイルスで不死化したヒトリンパ球細胞(男女各 17 サンプル、計 34 サンプル)について、CodeLink Human Whole Genome Bioarray (Amersham) を用いて遺伝子発現プロファイルを測定した。当アレイはヒト遺伝子 53,423 プローブ(EST 含む)を網羅した遺伝子発現解析用マイクロアレイであり、ヒト ABC 輸送体遺伝子 48 個すべてに対して、重複を含み 88 プローブが搭載されている。各 ABC 輸送体遺伝子について、34 検体の発現変動を調べ、高い変動を示す遺伝子を選び出した。遺伝子発現データは、以下の処理を行った。

- ・スケールリング: アレイごとに発現値の中央値=1に揃える (Normalized Intensity)。
- ・遺伝子のアノテーション: Probe 毎に付されている GenBank accession を元に、UniGene (build Hs. #181) を用いて遺伝子名を決めた。
- ・発現変動のある遺伝子は、CV (Coefficient of Variation) と、MAD (Median Absolute Deviation) について以下の条件を満たすものとした。

条件 1 :  $\text{Mean}(\{NI_{i,j}\}) > 0.5$  (低発現値の除外、ノイズ除去)

条件 2 :  $\text{CV}(\{NI_{i,j}\}) > 0.5$  又は  $\text{RMAD}(\{NI_{i,j}\}) > 0.3$

なお、閾値は、条件 1 に合うものの上位約 10% を目安にしている。

各記号の意味は以下に示す。

$\{NI_{i,j}\}$ : 34 検体の EB 株化リンパ球細胞の発現値

(Normalized Intensity)

CV := 標準偏差 (S. D.) / [相加] 平均 (Mean)

RMAD := 中央値絶対偏差 (MAD) / 中央値 (Median)

MAD :=  $\text{Median}(Gi) - \text{Median}(Gi)$  ( $Gi = NI$  of sample  $i$ ,  $i=1\sim 34$ ; sample\_id)

(倫理面への配慮)

本年度の研究計画ではヒトゲノムのゲノタイピングは施行しない。

#### C. 研究結果

##### 薬物投与後時系列データの解析アルゴリズムの開発

昨年度の報告後に実験を行った化合物の数が 45 から 85 へと増えたことにより、単純に遺伝子を説明変数として化合物を分類したときの平均的な正答率は 50% 前後へと低下した。遺伝子セットを用いて、決定木によるデータマイニングを実行したところ、およそ 80% の正答率が得られ、単純に遺伝子を説明変数としたときを上回るものとなった。また、発癌性のある化合物とそうでないものを分ける説明変数の主なものとして、表 1 が得られた。

##### ABC トランスポーターの遺伝子発現プロファイル解析

48 のヒト ABC 輸送体遺伝子のうち、発現変動のあるものが 10 遺伝子 (12 プローブ) (表 2)、特に ABCA6、ABCA12、TAP2 (ABCB3) については顕著な発現変動が見られた (図 3)。発現値の高い順に並べてグラフを描いた場合、発現値の分布が段階的になっているように見られる。(図 3、左図) また、頻度分布を見ると、高・中・低 発現の 3 グループに分かれる傾向が見られた。

#### D. 考察

発癌に至る経路が多様であるように、発癌性を有する化合物が生体へ及ぼす影響は初期の段階でも様々なものと予想される。その影響が発現プロファイルに現れるとすれば、階層的クラスタリング法など一元的な方法で化合物の発癌性の有無などを分類するのは難しい。実際に、これまでの我々の研究でもそのことを確認している。この問題を解決するために決定木によるデータマイニングを試みてきた。昨年度の研究報告ではこの方法を使い、40 種類程度の化合物を 70% 前後

の精度で予測することに成功していた。

マイクロアレイの実験でとられたデータを解析する際の共通した問題点の1つに、説明変数の数が多すぎることが挙げられる。一回の実験でも数千から数万の遺伝子の変動を捉えることが出来、時系列になればそれがタイムポイント分だけ増えることになる。高々100個に満たない化合物のデータを解析する際も、これは大きな問題となる。化合物の数が増えたとき、説明変数の数を増やすことなく、情報を効率的に使うことが必要になってくる。そこで今回、説明変数として既存の生物学的知識(パスウェイ情報)を用いる試みをした。決定木を作成する途中で、化合物の新たなグループの分割を選ぶとき、特定のパスウェイに所属する遺伝子群が変動しているかどうかで判断するものである。

今後の検討課題として、決定木によるデータマイニングでは、分類に影響のある説明変数も同時に取得することが出来るが、これは木構造の安定性と関連が深く、今後は入力データセットと説明変数を変更することで、どのように解析結果が変化するかを、さらに詳しく調べる必要がある。また、公共の情報として入手できる遺伝子セット以外に、化合物の毒性に関わる独自の遺伝子セット構築に関しても研究を進める必要があるだろう。実現方法としては、既存の文献情報などから変動する遺伝子セットを取得する方法と、公開されている遺伝子発現プロファイルなどを用いて、unsupervisedな手法でクラスターを抽出して行く方法が考えられる。これらの方法を使って、遺伝子セットの不十分さを改良することにより、より精度の高い予測が出来るものと考えている。

本研究では、遺伝子発現に変動があるという現象のみを見ているだけだが、サンプル間で発現変動があることから、遺伝子多型やエピジェネティックな個人差がある可能性がある。例えば、常染色体上に“高発現アレル”H”と“低発現アレル”L”が存在し、HH・HL・LLという組み合わせで其々、高・中・低発現のグループに対応することが考えられる。或いはもっと複雑な多型の組み合わせにより発現に影響している可能性もある。

代表研究者の石川らの ABC Transporter Database(<http://www.humanabc.bio.titech.ac.jp/>)によると、ABCA6、ABCA12、TAP2(ABCB3)遺伝

子はいずれも SNPs や変異の報告が少なく、今後、網羅的な遺伝子多型(SNPアレイなど)のデータが測定可能となりつつあるので、統合的に解析を進めることにより、発現差を生み出す遺伝素因をさらに探索することを予定している。

EBV株化リンパ球での発現プロファイルからの検討であるため、リンパ球細胞で発現していないABC輸送体遺伝子については検出が難しく、今後は薬剤代謝、輸送を行う組織(例えば、肝臓、腎臓、腸)での発現解析が必要である。

## E. 結論

トキシコゲノミクスの手法として注目されているマイクロアレイ解析について決定木を用いたマイニング手法について検討した。薬物を投与したラット肝遺伝子発現プロファイルの時系列データについて、遺伝子セットを説明変数とする決定木の手法により、より高い正答率が得られた。一部のABCトランスポーター遺伝子には発現レベルの個人差が認められた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kano M, Tsutsumi S, Kawahara N, Wang Y, Mukasa A, Kirino T, Aburatani H. A meta-clustering analysis indicates distinct pattern alteration between two series of Gene Expression profiles for induced ischemic tolerance in rats. *Physiological Genomics*. in press
- 2) Komura D, Nakamura H, Tsutsumi S, Aburatani H, Ihara S. Multidimensional support vector machines for visualization of gene expression data. *Bioinformatics*. 21(4):439-44. 2005
- 3) Fujiwara K, Ochiai M, Ohta T, Ohki M, Aburatani H, Nagao M, Sugimura T, Nakagama H. Global gene expression analysis of rat colon cancers induced by a food-borne carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Carcinogenesis*. 25(8): 1495-505. 2004
- 4) Nakatani N, Aburatani H, Nishimura K, Semba J, Yoshikawa T. Comprehensive expression analysis of a rat depression model. *Pharmacogenomics J*. 4(2):114-26. 2004
- 5) Kawahara N, Wang Y, Mukasa A, Furuya K,

Shimizu T, Hamakubo T, Aburatani H, Kodama T, Kirino T. Genome-wide Gene Expression Analysis for Induced Ischemic Tolerance and Delayed Neuronal Death Following Transient Global Ischemia in Rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 24(2): 212-223. 2004

- 6) Joo A, Aburatani H, Morii E, Iba H, Yoshimura A. STAT3 and MITF cooperatively induce cellular transformation through upregulation of c-fos expression. *Oncogene.* 23(3): 726-34. 2004

## 総説

1. 油谷浩幸 DNA チップの臨床応用 現代医療 36(5) : 1107-1114, 2004
2. 油谷浩幸 ゲノム発現からのアプローチ Molecular Medicine 41 臨時増刊ヒトゲノム 221-229, 2004
3. 油谷浩幸 ゲノム機能解析ツールとしてのDNA マイクロアレイ 蛋白質核酸酵素 49(11) : 1853-1858, 2004
4. 油谷浩幸 DNA チップのがん治療研究への応用 血液・免疫・腫瘍 9(2):175-180, 2004
5. 油谷浩幸 マイクロアレイのがん治療研究への応用 実験医学 22(14):1920-1926, 2004
6. 星田有人, 油谷浩幸 遺伝子発現解析とデータ解析 実験医学 23(4):530-536, 2005

## 2. 学会発表

1. 第90回日本消化器病学会 (仙台) 4/22 International symposium "The front line of cancer therapy" Discovery of a new biomarker for gastroenterological cancers
2. がんのシステムバイオロジーミニシンポジウム (東京) 5/27 Integrated genomics in cancer research
3. 第14回難病治療研究会 (東京) 7/8 アレイを用いた機能ゲノム解析
4. LSBM国際シンポジウム (東京) 7/13 2<sup>nd</sup> International Symposium on New Frontiers of Systems Biology and Medicine Novel Biomarker discovery through cancer genomics
5. 第11回箱根肝臓シンポジウム (箱根) 7/22 肝発癌におけるゲノム変異の統合的解析
6. BioJapan2004シンポジウム「ゲノム・プロテオーム解析の癌診療へのインパクト」(東

京) 9/28 ゲノム解析の癌研究への応用

7. 第11回群馬clinical Oncology Research勉強会 (前橋) 11/11 アレイ解析技術と癌研究
8. 三菱化学ヘルスケアフォーラム (東京) 11/13 癌の分子診断と治療への展開
9. 国際疲労学会 (軽井沢) 2/11 International Conference on Fatigue Science 2005 Gene Expression Signatures in CFS patients
10. 東京大学国際シンポジウム (東京) 2/18 The University of Tokyo International Symposium - Frontiers in Drug Development. Genomic Technology in Drug Development
11. 第13回広島大学・がんセミナー学術講演会 (広島) 3/1 アレイ解析による high throughput biology
12. 第7回 Tokyo Urological Research Conference (TURC) 東京、3/5 がんゲノム情報の網羅的解析

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

