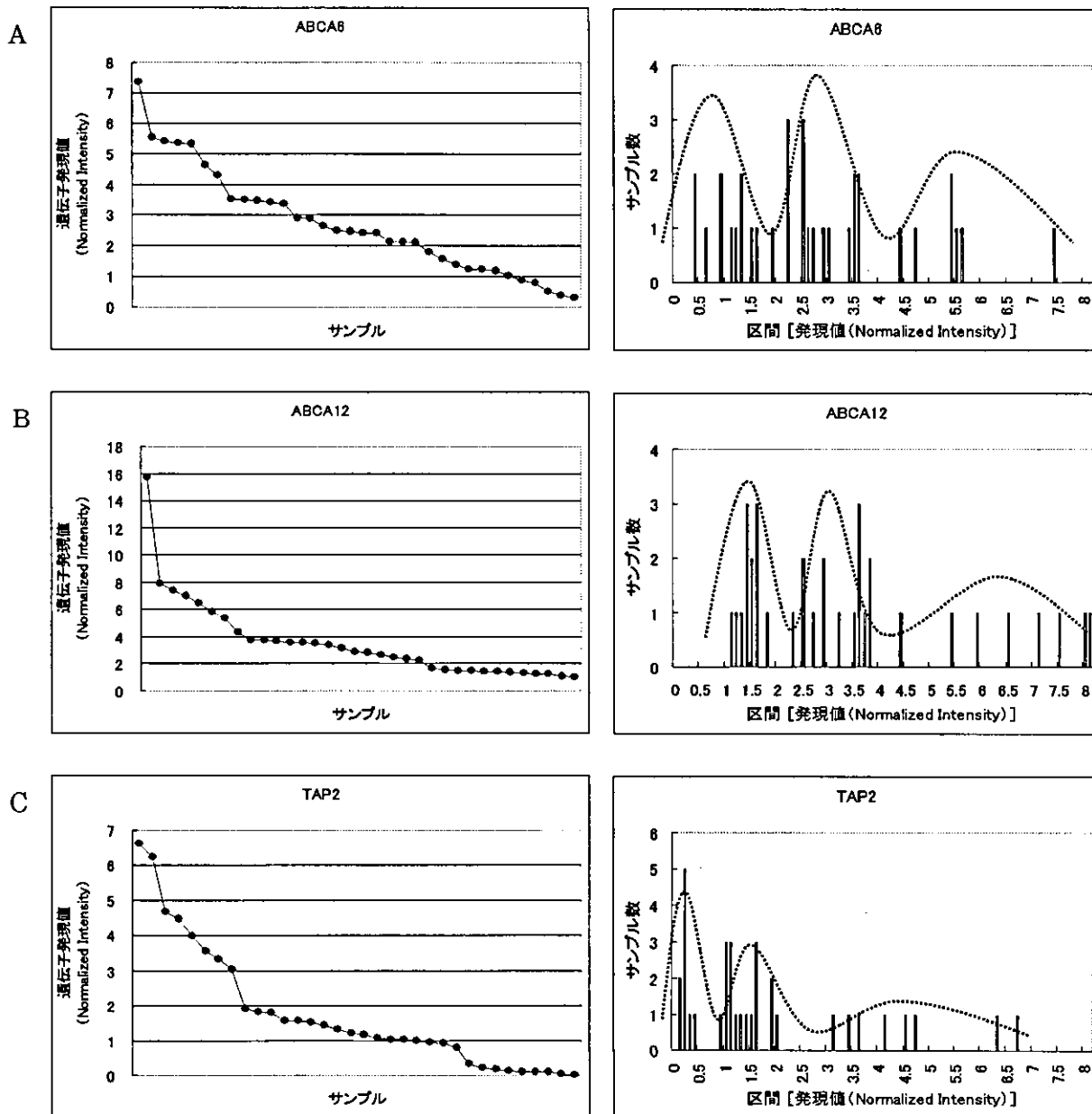


表 2. 発現変動のある ABC 輸送体遺伝子

GENE	Accession	UniGene ID	CYTOBAND	C. V.	RMD
ABCA3	NM_001089	Hs. 26630	16p13.3	0.51	0.33
ABCA6	BX647672	Hs. 195395	17q24.3	0.70	0.50
ABCA12	NM_015657	Hs. 134585	2q34-q35	1.01	0.67
ABCB1	NM_000927	Hs. 489033	7q21.1	0.59	0.35
TAP2	NM_018833	Hs. 502	6p21.3	0.41	0.33
TAP2	BM837442	Hs. 502	6p21.3	1.47	0.94
ABCB4	NM_018849	Hs. 287827	7q21.1	0.42	0.26
ABCB7	AA699620	Hs. 370480	Xq12-q13	0.49	0.36
ABCD3	NM_002858	Hs. 76781	1p22-p21	0.38	0.28
ABCD3	BQ025562	Hs. 76781	1p22-p21	1.01	0.36
ABCE1	NM_002940	Hs. 12013	4q31	0.40	0.30
ABCF2	NM_007189	Hs. 438823	7q36	0.37	0.29

図 3. 発現変動の顕著な ABC 輸送体遺伝子の発現分布 (左) と度数分布 (右)。A:ABCA6、B:ABCA12、C:TAP2(ABCB3) (右図の点線は、発現分布の推測イメージ)



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)

分担研究報告書

医薬品・化学物質のデータベース化に関する研究

分担研究者 中田 琴子 (国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部)

研究要旨

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。医薬品/化学物質と体内標的の構造データ、結合親和性、細胞内信号伝達情報、SNP 情報等を含め、体内標的と薬物相互作用解析の基礎データを提供する。

A. 研究目的

医薬品や毒性研究の情報基盤整備のためにこれまで受容体データベース、内分泌かく乱物質のための結合親和性データベース、薬物代謝酵素チトクローム P450 関連知識ベース等を開発してきた。この情報基盤をさらに拡充するため、本研究では体内標的として酵素およびトランスポーターについて分子レベル解析用のデータを収集整理してデータベースを構築する。

また核内受容体等パラダイマティックな標的とリガンドについての結合親和性について生物実験値および理論計算値の比較検討を含め、細胞内信号伝達から遺伝子発現までのパスウェイについて究明する。

B. 研究方法

医薬品・化学物質のデータベースを構築し、データ解析を行う。

- 1) 薬効別分類 (日本公定書協会編：医薬品一般名称辞典 1996) に基づく医薬品の標的データベース Drug Target Database Based on Therapeutic Category (DTDBTC) の医薬品データを更新する。
- 2) DTDBTC の標的データについて、東京大学生産技術研究所の戦略ソフトウェア開発：タンパク質—化学物質相互作用プロジェクト内で開発している標的データベース KiBank の受容体、酵素、トラ

ンスポーター等に連携する。

- 3) 受容体と医薬品等リガンドとの結合親和性について実験値および最近有用性が示されてきた非経験的フラグメント分子軌道法 (ab initio FMO) 等の理論計算値を比較し、回帰直線を描いて検討する。
- 4) 核内受容体 (LXR, PPAR, HNF4 α) の標的遺伝子の探索を行い探索法について、および結果の絞り込みについて検討。トランスポーター遺伝子のイントロン部分における SNP 情報について調べ、また核内受容体を解する遺伝子発現についての関連について検討する。

C. 結果

医薬品の標的データベース

医薬品を薬効別に分類した標的データベース DTDBTC を更新し、Web 公開した。

(図 1. 参照)

<http://moldb.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。

結合親和性について

薬効別分類に基づく医薬品の標的データベース DTDBTC を標的データベース KiBank に連携したことで、受容体、酵素、トランスポータ等の結合親和性データは KiBank の結合親和性データ等を即座に取得できるようにした。受容体とリガンドとの結合親和性について実験値 (KiBank のデータ) および理論計算値 (ab initio FMO 法) を比較し、回帰直線を描いたところよい結果が得られた。

標的遺伝子の *in silico* 探索法について

昨年度開発したマルコフ連鎖モデルによる標的遺伝子探索方法を用いて、LXR、PPAR、HNF4 α の標的遺伝子探索を試みたところ、標的遺伝子候補数は 928、379、2230 と多数の候補配列が得られた。これらを絞り込むには、生体内組織における発現の可能性と合わせて検討する必要がある。Gene Ontology (GO) と BODY MAP データベースを利用して標的遺伝子を機能、発現組織で分類した。GO と BODY MAP の両方の情報をもつ遺伝子は少ないが、2つの情報を持つ遺伝子を対象とした絞り込みは 156、65、378 となり、絞り込み方法について有用性が示された。トランスポータ遺伝子イントロン内に存在する LXR、PPAR、HNF4 α の PE 高フォ数はそれぞれ 437、78、525 個検出でき、SNP はそれぞれ 1、0、13 個見つけることができた。

D. 考察

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についても更新した。酵素やトランスポータの 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、HNF4 α 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り、問題が残っている。SNP に関係して機能などへの影響について今後さらに詳細を検討していきたい。

E. 結論

医薬品の標的データベースについては、日本の医薬品が主であるが、米国および英国の医薬品についてもある程度含めた。3次元構造を含む医薬品情報と標的情報に対応づけ、標的については核内受容体および膜受容体に酵素およびトランスポータデータが追加された。標的の 3次元構造や結合親和性データについて、データが更新されており、今後さらに充実させていきたい。標的データベース中の結合親和性データについて、現状は実験値のみであるが、最近有用性が示されてきた非経験的フラグメント分子軌道法 (ab initio FMO) を用いた計算結果等も含めて、まだ実験がおこなわれていない化学物質についての結合親和性の予測を行うことも可能である。

医薬品や標的についてデータベースの構成はできあがっており、詳細データが増加次第更新を続ける予定である。今後さらに SNP データやそれによる機能や疾病との関連等のデータが増加することが見込まれる。標的遺伝子探索についての理論的取組と併せて医薬品・化学物質による遺伝子発現の影響について研究を進展させたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Fukuzawa, K., Kitaura, K., Uebayasi, M., Nakata, K., Kaminuma, T. And Nakano, T.: Ab initio Quantum Mechanical Study of the Binding Energies of Human Estrogen Receptor a with its Ligands: An application of Fragment of Molecular Orbital Method. J Comp Chem 26, 1-10 (2005)
- Zhang, J., Aizawa, M., Amari, S., Iwasawa,

- Y., Nakano, T., Nakata, K.: Development of KiBank, a database supporting structure-based drug design. *Computational Biology and Chemistry* 28, 401-407 (2004)
- Aizawa, M., Onodera, K., Zhang, J., Amari, S., Iwasawa, Y., Nakano, T. and Nakata, K.: KiBank: A Database for Computer-Aided Drug Design Based on Protein-Chemical Interaction Analysis. *Yakugakuzasshi*, 124, 613-619 (2004)
 - Toda, K., Ishida, S., Nakata, K., Matsuda, R., Shigemoto-Mogami, Y., Ozawa, S., Sawada, J., Inoue, K., Shudo, K. and Hayashi, Y.: Improvement in Reliability of Probabilistic Test of Significant Differences in GeneChip Experiments. *Anal. Sci.* 20, 731-733 (2004)
2. 学会発表
- 愛澤昌宏、張軍衛、甘利真司、岩澤義郎、中野達也、中田琴子：KiBank（タンパク質-化学物質相互作用解析支援データベース）の開発、日本薬学会第125回年会、（東京、2005年3月）
 - Nakata, K., Zhang, J., Aizawa, M., Amari, S., Iwasawa, Y., Nakano, T.: Development of a target database 'KiBank' supporting structure-based drug design. *WATOC 2005* (Cape Town, 2005. 1)
 - Tanaka, Y., Kaminuma, T., Nakata, K., Tanaka, H.: In Silico Search for Nuclear Receptor Target Genes. *Genome Informatics 2004* (Yokohama, December 2004)
 - Tanaka, Y., Kaminuma, T., Nakata, K., Tanaka, H.: Xenobiotic metabolic enzymes and transporters as nuclear receptor target genes. *Toxicogenomics International Forum* (Kyoto, 2004.10)
 - Nakata, K., Tanaka, Y., Momose, H., Tanaka, H., Kaminuma, T.: Drug Target and Target Genes. *ISMB/ECCB 2004* (Glasgow, 2004. 8)
 - 田中義智、神沼二真、中田琴子、田中博：In Silicoによる核内受容体の標的遺伝子の推定、CBI学会第5年会（Tokyo, 2004. 7）
 - 中田琴子、愛澤昌宏、張軍衛、甘利真司、小宮山純平、中野達也：薬効別標的データベース、CBI学会第5年会（Tokyo, 2004. 7）
 - Zhang, J., Aizawa, M., Onodera, K., Amari, S., Iwasawa, Y., Nakano, T., Nakata, K.: A Database for Computing of Molecular Interaction between Proteins and Chemicals (KiBank). The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science (Yokohama, April 14-18, 2004)
- 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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中田 琴子			In Silico 創薬情報	丸善出版 サービス センター	東京	2005	総ページ98
石川 智久	ファーマコゲノミクス：薬物トランスポーターの遺伝子多型と薬剤応答性	村松正実	ゲノムと疾患	南山堂	東京	2004	177-186

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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		印刷中	2005
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		印刷中	2005
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		印刷中	2005
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		印刷中	2005
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		印刷中	2005
Komura D, Nakamura H, Tsutsumi S, Aburatani H, and Ihara S.	Multidimensional support vector machines for visualization of gene expression data	Bioinformatics	21(4)	439-444	2005
Fukuzawa, K., Kitaura, K., Uebayasi, M., Nakata, K., Kaminuma, T. and Nakano, T.	Ab initio Quantum Mechanical Study of the Binding Energies of Human Estrogen Receptor a with its Ligands: An application of Fragment of Molecular Orbital Method	J Comp Chem	26	1-10	2005
Ishikawa, T.	Pharmacogenomics in Drug Transporters: Functional Analysis of Genetic Polymorphisms	Global Outsourcing Review	6 (1)	28-33	2004
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)	Biol Pharm Bull	27	939-948	2004

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	1-14	2004
Takayanagi, S., Kataoka, T., Ohara, O., Oishi, M., Kuo, M.T., and Ishikawa, T.	Human ATP-binding cassette transporter ABCB10: expression profile and p-53-dependent upregulation	J Exp Ther Oncol	4	239-246	2004
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
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
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
Fujiwara K, Ochiai M, Ohta T, Ohki M, Aburatani H, Nagao M, Sugimura T, and 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)	1495-1505	2004
Nakatani N, Aburatani H, Nishimura K, Semba J, and Yoshikawa T.	Comprehensive expression analysis of a rat depression model	Pharmacogenomics J	4	114-126	2004
Kawahara N, Wang Y, Mukasa A, Furuya K, Shimizu T, Hamakubo T, Aburatani H, Kodama T, and 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	212-223	2004
Joo A, Aburatani H, Morii E, Iba H, and Yoshimura A.	STAT3 and MITF cooperatively induce cellular transformation through upregulation of c-fos expression	Oncogene	23	726-734	2004
Zhang, J., Aizawa, M., Amari, S., Iwasawa, Y., Nakano, T., and Nakata, K.	Development of KiBank, a database supporting structure-based drug design	Computational Biology Chemistry	28	401-407	2004
Aizawa, M., Onodera, K., Zhang, J., Amari, S., Iwasawa, Y., Nakano, T. and Nakata, K.	KiBank: A Database for Computer-Aided Drug Design Based on Protein-Chemical Interaction Analysis	Yakugaku zasshi	124	613-619	2004
Toda, K., Ishida, S., Nakata, K., Matsuda, R., Shigemoto-Mogami, Y., Ozawa, S., Sawada, J., Inoue, K., Shudo, K. and Hayashi, Y.	Improvement in Reliability of Probabilistic Test of Significant Differences in GeneChip Experiments	Anal Sci	20	731-733	2004