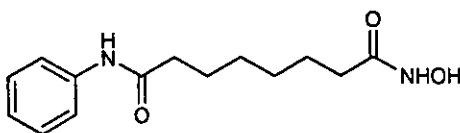
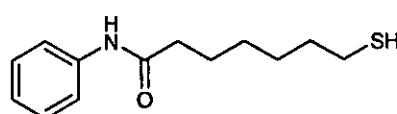
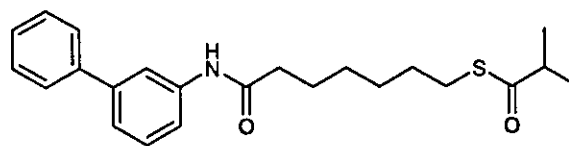
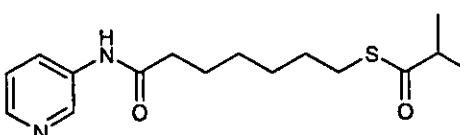
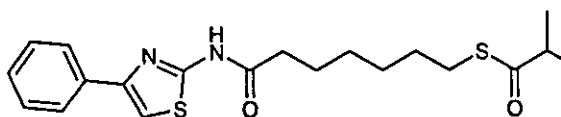
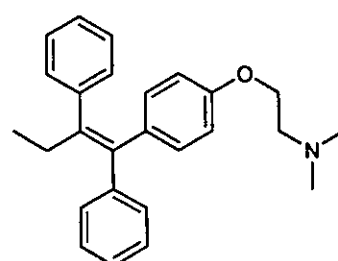


Chemical	Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Structure
----------	------------------------------------	-----------

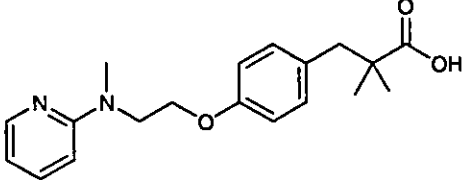
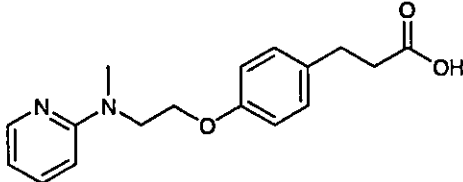
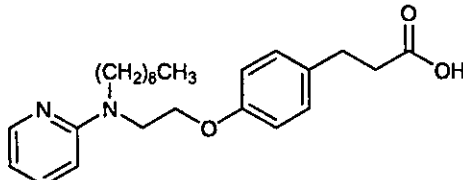
**HDAC Inhibitors**

SAHA	1	
HDAI-1	1	
HDAI-2	1	
HDAI-3	1	
HDAI-4	1	

**Anti-estrogens**

Tamoxifen	5	
-----------	---	--------------------------------------------------------------------------------------

Chemical	Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Structure
Tamoxifen-OH	5	
Tamoxifen-H	5	
<b><u>Thiazolidenediones</u></b>		
Troglitazone	20	
Pioglitazone	20	
Rosiglitazone	20	
a-Me	20	

Chemical	Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Structure
c-Me	20	
PY1	20	
PY9	20	

- [a] Harris A.J., Dial S.L., Casciano D.A., (2004) Comparison of basal gene expression profiles and effects of hepatocarcinogens on gene expression in cultured primary human hepatocytes and HepG2 cells, *Mut. Res.*, 549, 79-99.
- [b] Pierce RH, Franklin CC, Campbell JS, Tonge RP, Chen W., Fausto N, Nelson SD, Bruschi SA, (2002), Cell culture model for acetaminophen-induced hepatocyte death in vivo, *Biochem. Pharmacol.*, 64, 413-424
- [c] Selim K, Kaplowitz N, (1999) Hepatotoxicity of psychotropic drugs, *Hepatology*, 29, 1347-1351
- [d] Bort R., Ponsoda X., Jover R., Gómez-Leuchón M., Castell J.V., (1998) Diclofenac Toxicity to Hepatocytes: A Role for Drug Metabolism in Cell Toxicity, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 288, 65-72
- [e] Purcell P., Henry D., Melville (1991) Diclofenac hepatitis, *Gut*, 32, 1381-1385
- [f] Gomez-Lechon MJ, Ponsoda X, O'Connor E, Donato T, Jover R, Castell JV, (2003) Diclofenac induces apoptosis in hepatocytes, *Tox. In Vitro.*, 17, 675-680
- [g] Zhu D, Ganji SH, Kamanna VS, Kashyap ML, (2002), *Atherosclerosis* 164, 221-228
- [h] Schwab CE, Tuschl H, (2003), In vitro studies on the toxicity of isoniazid in different cell lines *Hum Exp Toxicol*, 22, 607-615
- [i] Tuschl H, Schwab CE, (2004), Flow cytometric methods used as screening tests for basal toxicity of chemicals, *Tox. In Vitro*, 18, 483-491
- [j] Valentine-Severin I, Le Hegarat L, Lhuguenot JC, Le Bon AM, Chagnon MC, (2003) Use of HepG2 cell line for direct or indirect mutagens screenin: comparative investigation between comet

- 
- and micronucleus assays, *Mut Res-Gen Tox Environ Mutagen* 536, 79-90
- [k] Uhl M, Helma C, Knasmuller S, (2000) Evaluation of the single cell gel electrophoresis assay with human hepatoma (Hep G2) cells, *Mut Res-Gen Tox Environ Mutagen* 468, 213-225
- [l] Pérez G, Tabares B, Jover R, Gómez-Lechón M.-J., Castell JV (2003), Semi-quantitative RT-PCR to measure CYP induction by drugs in human hepatocytes, *Tox in Vitro*, 17, 643-649
- [m] Raucy JL, Regulation of CYP3A4 expression in human hepatocytes by pharmaceuticals and natural products, (2003), *Drug Met. Dispos.* 31, 533-539.
- [n] Hautekeete ML (1995) Hepatotoxicity of antibiotics, *Acta Gast-Entero Belg.*, 58, 290-296
- [o] McMillian MK, Grant ER, Zhong Z, Brandon Parker J, Li L, Zivin RA, Burczynski ME, Johnson MD, (2001) Nile Red Binding to HepG2 Cells- An Improved Assay for In Vitro Studies of Hepatosteatosis, *In Vit. Mol. Toxicol.*, 14, 177-190

表 2. 使用したプライマリーヒト肝細胞のドナー情報

Cell Line	Demographics			Cause of Death	Tobacco/ Alcohol	Medical History
	Race	Sex	Age			
Gentest Lot.44 (Gen-44)	C	M	44			
IVT Lot.59 (IVT-59)	C	M	33	ICB	Y/Y	Appendectomy, Hydrocodone
IVT Lot.100 (IVT-100)	C	F	74	ICB	Y/N	Diabetes
IVT Lot.FEP (IVT-FEP)	AA	F	59	ICH	N/Y	Hypertension
IVT Lot.RUJ (IVT-RUJ)	C	F	74	ICH	N/N	Hysterectomy, High Cholesterol
RILD (HH-011)	M	M	29			
TTT Lot.185 (TTT-185)	C	M	61	CVA	Y/Y	Diabetes
TTT Lot.202 (TTT-202)	H	M	1	HT	N/N	

表 3. 1way ANOVA の結果

	Ace 1h	Ace 4h	Ace 24h	Chi 1h	Chi 4h	Chi 24h	Dic 1h	Dic 4h	Dic 24h	Germ 1h	Germ 4h	Germ 24h	Iso 1h	Iso 4h	Iso 24h	Nit 1h	Nit 4h	Nit 24h	Phe 1h	Phe 4h	Phe 24h	Tet 1h	Tet 4h	Tet 24h
Ace 1h	4192	53	736	16	221	37	29	32	940	17	92	120	22	106	1760	21	14	65	20	15	31	27	34	189
Ace 4h	4159	312	766	90	109	165	106	143	1089	75	110	233	81	78	1359	86	81	168	97	94	120	100	62	303
Ace 24h	3476	3446	312	718	852	602	832	749	917	751	755	542	757	900	1402	774	739	788	746	734	775	849	822	570
Chi 1h	4196	4122	3494	49	25	12	12	12	933	3	48	118	9	107	1477	8	4	37	5	3	14	11	27	171
Chi 4h	3991	4103	3360	4163	172	144	203	1082	47	62	266	100	182	1477	54	90	153	60	154	122	35	83	96	311
Chi 24h	4175	4047	3610	4187	4040	3212	25	23	783	43	104	44	25	176	1768	19	24	106	19	21	35	72	41	106
Dic 1h	4183	4106	3360	4206	4068	4187	11	943	21	138	139	0	122	1778	0	6	44	1	4	17	51	15	206	
Dic 4h	4180	4069	3463	4206	4099	4189	4201	4212	804	31	107	107	15	146	1837	11	7	59	16	4	19	55	39	147
Dic 24h	3272	3123	3295	3279	3130	3429	3269	3408	312	999	1037	694	929	1084	1621	948	891	922	918	863	808	1078	1046	606
Germ 1h	4195	4137	3461	4209	4195	4199	4191	4181	3213	4212	62	118	10	97	1448	9	10	56	15	13	29	10	26	197
Germ 4h	4120	4102	3457	4194	4150	4108	4074	4195	3175	4190	172	197	113	149	1387	104	56	153	86	87	94	73	46	280
Germ 24h	4082	3979	3670	4094	3946	4188	4073	4105	3518	4094	4015	3212	106	239	1557	116	110	233	129	106	100	187	154	127
Iso 1h	4190	4131	3455	4203	4112	4187	4212	4197	3283	4202	4099	4108	95	1706	1706	0	0	46	0	6	19	36	14	195
Iso 4h	4106	4134	3317	4105	4030	4039	4090	4056	3128	4115	4063	3973	4117	4212	1318	115	102	192	112	120	147	128	102	282
Iso 24h	2452	2853	2810	2735	2735	2444	2434	2375	2591	2763	2625	2655	2508	2884	3212	1621	1583	1629	1504	1729	1581	1585	1661	1364
Nit 1h	4191	4126	3438	4204	4158	4193	4212	4201	3284	4203	4108	4096	4212	4097	2591	4212	2	36	1	3	18	35	13	189
Nit 4h	4199	4131	3473	4208	4122	4188	4206	4205	3321	4202	4156	4102	4212	4110	2678	4210	4212	33	2	1	21	39	15	174
Nit 24h	4147	4044	3424	4175	4059	4106	4168	4153	3290	4156	4058	3979	4169	4020	2593	4176	4179	4212	37	38	40	95	74	295
Phe 1h	4192	4115	3466	4207	4152	4193	4211	4196	3294	4197	4126	4093	4212	4100	2708	4211	4210	4175	4212	5	22	36	17	192
Phe 4h	4197	4118	3478	4209	4058	4191	4208	4208	3348	4199	4125	4106	4206	4092	2463	4209	4211	4174	4207	4212	9	48	20	157
Phe 24h	4181	4092	3437	4196	4090	4177	4195	4193	3404	4183	4118	4112	4193	4065	2631	4194	4191	4172	4190	4209	4212	54	40	183
Tet 1h	4185	4112	3363	4201	4129	4140	4161	4157	3134	4202	4138	4025	4176	4088	2627	4177	4173	4117	4176	4164	4158	4212	45	269
Tet 4h	4178	4150	3390	4185	4116	4171	4197	4173	3166	4198	4166	4058	4198	4110	2551	4199	4197	4138	4195	4192	4172	4187	4212	229
Tet 24h	4023	3909	3842	4043	3901	4106	4006	4085	3606	4015	3932	4085	4012	3930	2848	4023	4038	3917	4020	4055	4029	3943	3983	1212

表 4. 「肝毒性関連遺伝子発現データベース」 (24 時間後に 2 倍以上の発現誘導、発現抑制が確認された遺伝子)

Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
<b>Anti-epitaxia</b>									
baculoviral IAP repeat-containing 5	NM_001168	0.20	0.24	0.46	0.22		0.34		
BCL2-like 1	NM_001191		0.47	0.16					2.56
secreted phosphoprotein 1	M83248	0.28		0.49					
chemokine ligand 2	S69738	0.41	0.34	0.49	3.46				0.29
<b>Apoptosis</b>									
TIAT cytotoxic granule-associated RNA binding protein	NM_022037	0.38			0.26				2.77
serum/glucoconjugate regulated kinase	NM_005627		0.38	0.43					
baculoviral IAP repeat-containing 5	NM_001168	0.20	0.24	0.46	0.22		0.34		
tumor necrosis factor superfamily, member 10	NM_003810	0.43	0.39	0.44	0.43		0.40		0.48
death-associated protein kinase 1	NM_004938		0.47	0.20					
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	NM_001066	0.40		0.16			0.47		
PRKC, apoptosis, WTI, regulator	A036206	0.47		0.45					
engulfment and cell motility 1	NM_014800	0.34	0.49						0.39
growth arrest-specific 2	NM_005256	0.40		0.41			0.44		0.27
Growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	AF087853	3.40		5.76					0.15
tumor protein p53	K03199	0.36		0.46					0.49
tribbles homolog 3	NM_021158		3.05				2.60		0.33
<b>Carbohydrate metabolism</b>									
aldo-keto reductase family 1, member B1	NM_001628	0.48		0.17					0.44
uracil-DNA glycosylase	NM_003362	0.47	0.48	0.42					
solute carrier family 3, member 1	M95548	0.11	0.29	0.26					
fucosyltransferase 1	NM_000148		2.42						
maltase-glucoamylase	NM_004668	0.47	0.36						
solute carrier family 2, member 2	NM_000340	0.09	0.19	0.08					
aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1	NM_000692	0.36	0.27	0.24					
dehydrogenase/reductase member 2	AK000345	3.43		2.77					
<b>Cell cycle</b>									
SMC4 structural maintenance of chromosomes 4-like 1	AL136877	0.22	0.29	0.14					
polo-like kinase 2	NM_006622		0.40	0.11					
MCM2 minichromosome maintenance deficient 2, mitotin	NM_004526	0.24	0.17						
regulator of G-protein signalling 2, 24kDa	NM_002923		0.48	0.38					
ubiquitin-conjugating enzyme E2C	NM_007019	0.23	0.44						
MAD2 mitotic arrest deficient-like 1	NM_002358	0.23	0.25	0.46	0.35				
BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles	NM_001211	0.07	0.06	0.37	0.06				
CDC6 cell division cycle 6 homolog	NM_001254	0.35		0.15					
CDC28 protein kinase regulatory subunit 2	NM_001827			0.22					
kinetin family member 23	NM_004856	0.24	0.22	0.38	0.26				
CHK1 checkpoint homolog	NM_001274	0.42		0.44					
growth arrest-specific 2	NM_005256	0.40		0.41					
serine-threonine kinase 6	NM_003158	0.07	0.18	0.44	0.08				

Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
aurora kinase B	AB011446	0.18	0.23	0.31	0.21	0.25			
BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog	AF043294	0.18	0.17	0.23	0.20	2.30	0.27		
cyclin-dependent kinase inhibitor 3	AF213033	0.39	0.33	0.41	0.27	0.37			
MCM7 minichromosome maintenance deficient 7	AF279900	0.16	0.22						
chromosome condensation protein G	NM_022346	0.12	0.11	0.25	0.15	2.00	0.16		
<u>Cell growth</u>									
core promoter element binding protein	BE675435		0.47	0.32					
p8 protein	AF135266		3.42	2.25		2.12			
transforming growth factor, beta 2	M19154	0.24	0.19	0.29					
<u>Cell growth and/or maintenance</u>									
folliculin-like 3	NM_005860	0.40	0.35						
sema domain, immunoglobulin domain, short basic domain, NM_006379			0.10	0.46	0.12	0.47			
secreted, 3C									
hepatic leukemia factor	A1810712		2.85	2.08	0.49	0.47			
B-cell CLL/lymphoma 3	NM_005178	0.47		0.50					
dedicator of cytokinesis 4	NM_014705	0.43	0.45	0.13					
bone morphogenetic protein 2	NM_001200	0.21		0.10					
growth arrest-specific 2	NM_005256	0.40		0.41					
cyclin D1	M73554	0.45	0.20						
v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	BC004490	15.62		77.68					
DNA-damage-inducible transcript 3	BC003637		6.69				2.91		

Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
inhibin, beta E	BC005161	0.24	9.47						3.83
insulin-like growth factor binding protein 3	NM_000598		4.58		2.04	2.14			
Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein	AL135735	0.33	0.48	0.41					
transforming, acidic coiled-coil containing protein 3	NM_006342	0.42		0.49	2.18				
platelet derived growth factor C	NM_016205		0.47	0.38					
epithelial cell transforming sequence 2 oncogene	NM_018098	0.46	0.27	0.15					
<u>Cell proliferation</u>									
insulin induced gene 1	BE300521	2.30	2.06						
chemokine ligand 1	NM_001511		0.19	0.41	2.60				
PDZ domain containing 1	NM_002614	0.42	0.38						
interferon, gamma-inducible protein 16	NM_005531	0.50		0.30					
kinesin family member 2C	U63743	0.18	0.17	0.20	0.18	0.22			
transforming growth factor, beta 2	M19154	0.24	0.19	0.29					
TPX2, microtubule-associated protein homolog	AF098158	0.17	0.15	0.48	0.13	0.25			
cysteine-rich, angiogenic inducer, 61	AF003114		0.30	0.18					
tumor protein p53	K03199	0.36		0.46					
platelet derived growth factor C	NM_016205		0.47	0.38					
<u>Cell-cell signaling</u>									
tumor necrosis factor superfamily, member 10	NM_003810	0.43	0.39	0.44	0.43	0.40			
adrenomedullin	NM_001124	1.33	2.18	2.65					
membrane metallo-endopeptidase	A1433463		2.76	2.77					



Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
stanniocalcin 2	BC000658		3.52					7.41	
discs, large homolog 7	NM_014750	0.25	0.24	0.39	0.27			0.29	
bone morphogenetic protein 2	NM_001200	0.21			0.10				
interleukin 18	NM_001562	0.28	0.26		0.19				
secreted phosphoprotein 1	M83248	0.28			0.49				
chemokine ligand 2	S69738	0.41	0.34		0.49		3.46		
fibroblast growth factor 21	NM_019113		34.45					6.66	
<b>Chemokines</b>									
FOS-like antigen 1	BC251266	0.49	0.42		0.20				
chemokine ligand 1	NM_001511		0.19	0.41			2.69		
leukocyte cell-derived chemotaxin 2	NM_002302	2.33	0.40		4.40				
cysteine-rich, angiogenic inducer, 61	AJ003114		0.30		0.18				
chemokine ligand 2	S69738	0.41	0.34		0.49		3.46		
<b>Cytokines</b>									
platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform 1b	NM_000430	0.47			0.34				
cyclin B2	NM_004701	0.25	0.30	0.42	0.28				
CDC20 cell division cycle 20 homolog	NM_001255	0.04	0.08	0.28	0.04			0.14	
ubiquitin-conjugating enzyme E2C	NM_007019	0.23	0.44						
CDC6 cell division cycle 6 homolog	NM_001254	0.35			0.15				
CDC28 protein kinase regulatory subunit 2	NM_001827				0.22			0.49	
NIMA-related kinase 2	NM_002497	0.11	0.47	0.11	0.34	0.13		0.19	
<b>Biological Process/Gene Name</b>	<b>GenID</b>	<b>Ace</b>	<b>Chl</b>	<b>Dic</b>	<b>Gem</b>	<b>Iso</b>	<b>Nit</b>	<b>Phe</b>	<b>Tet</b>
kinesin family member 23	NM_004856	0.24	0.22	0.38	0.26			0.33	
centromere protein E, 312kDa	NM_001813	0.46	0.45	0.45	0.45	0.49		0.46	
cyclin D1	M73554	0.45	0.20						
cell division cycle 2, G1 to S and G2 to M	D88357	0.05	0.05	0.28	0.06			0.16	
cyclin E2	AF112857		0.35		0.27	2.63		0.35	
cyclin A2	A1346350	0.11	0.40	0.12	0.27	0.12		0.21	
cyclin B1	BE407516	0.36	0.25	0.47	0.08			0.35	
protein regulator of cytokinesis 1	NM_003981	0.05	0.06	0.45	0.07			0.28	
cell division cycle associated 8	BC001651	0.47	0.42					0.47	
<b>DNA repair</b>									
replication factor C 5, 36.5kDa	BC001866					0.43		0.49	
Fanconi anemia, complementation group G	NM_004629	0.32	0.40						
RNA binding motif protein 14	NM_006328		0.37					0.37	
polymerase, epsilon 2	NM_002692	0.41	0.42		0.48	2.04			
high-mobility group box 2	BC000903	0.38			0.18			0.46	
RAD51-like 1	U84138	0.24	0.21					0.29	
<b>DNA replication</b>									
ribonucleotide reductase M1 polypeptide	NM_001033	0.43	0.45					0.45	
MCM2 minichromosome maintenance deficient 2, mitotin	NM_004526	0.24	0.17					0.48	
replication factor C 5, 36.5kDa	BC001866							0.43	0.49
CDC6 cell division cycle 6 homolog	NM_001254	0.35						0.15	

Biological Process/Gene Name		GenID	Ace	Chi	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
CDC45 cell division cycle 45-like		NM_003504	0.25	0.39	0.46					2.83
replication factor C 3, 38kDa		NM_002915	0.33	0.27	0.24	0.50				4.64 2.09
RNA binding motif protein 14		NM_006328		0.37	0.37					3.56
flap structure-specific endonuclease 1		NM_004111	0.45	0.46	0.16					3.24
origin recognition complex, subunit 2-like		NM_006190	0.43		0.18					3.49 3.59
primase, polypeptide 1, 49kDa		NM_000946	0.47	0.48						2.96
polymerase, epsilon 2		NM_002692	0.41	0.42	0.48	2.04				2.68 2.57 2.67 2.89
nucleosome assembly protein 1-like 1		AL162068	0.38	0.41						3.27 3.31 3.09
high-mobility group box 2		BC000903	0.38		0.18	0.46				11.76 6.33
dUTP pyrophosphatase		AB049113	0.24	0.22	0.40	0.31	0.28			2.43
insulin-like growth factor 1		NM_000618	0.18	0.22						0.37 0.11 0.45
ribonucleotide reductase M2 polypeptide		BC001886	0.10	0.08	0.47	0.07	0.30			
MCM7 minichromosome maintenance deficient 7		AF279900	0.16	0.22						
Nuclear factor I/B		AL110126	0.42		0.26					
MCM5 minichromosome maintenance deficient 5		AA807529	0.26	0.20	0.36					2.19 3.34
DNA replication complex GINS protein PSF2		BC003186	0.25	0.17						3.79 2.06
MCM4 minichromosome maintenance deficient 4		AB59865	0.36	0.23	0.49	0.31	0.50			2.31
<b>Electron transport</b>										
cytochrome P450, family 2, subfamily A, polypeptide 6		M33318	2.11		4.43					0.33 0.43
acyl-Coenzyme A oxidase 3, pristanoyl		BF055171	0.42	0.41						5.61 4.43
cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1		NM_000499		9.14	23.78	42.05				0.41 0.25
cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4		AF182273	2.08	3.43	2.93	3.79	2.61			0.41 0.47

Biological Process/Gene Name		GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
chemokine ligand 1		NM_001511	0.19	0.41				2.69		
tubby like protein 3		AK024246	4.36					2.17		
prostaglandin F receptor		NM_000959	0.41					0.36		
A kinase anchor protein 12		AB003476	0.45	0.31						
Retinoic acid induced 3		AA156240	0.37	0.50				0.32		
olfactory receptor, family 7, subfamily E 18		AA719797	0.23	0.48						
<b>Immune response</b>										
tumor necrosis factor superfamily, member 10		NM_003810	0.43	0.39	0.44	0.43		0.40		
sema domain, immunoglobulin domain, secreted, 3C		NM_006379		0.10	0.46	0.12	0.47			
chemokine ligand 1		NM_001511		0.19	0.41			2.69		
toll-like receptor 3		NM_003265	0.44	2.71			0.38			
interleukin 18		NM_001562	0.28	0.26			0.19			
interferon, gamma-inducible protein 16		NM_005531	0.30				0.30			
tumor necrosis factor superfamily, member 11		AF053712	0.50	0.49			0.11			
interleukin 1 receptor, type II		U64094	0.33	0.40						
immunoglobulin heavy constant gamma 1		M87789					1.56	2.60		
ankyrin repeat domain 15		D79994	0.48				0.25			
immunoglobulin lambda constant 2		X57812					0.46	3.09	2.03	
hepcidin antimicrobial peptide		NM_021175	2.35				3.32	2.30		
<b>Induction of apoptosis</b>										
TIA1 cytotoxic granule-associated RNA binding protein		NM_022037	0.38				0.26			
<b>Biological Process/Gene Name</b>										
tumor necrosis factor superfamily, member 10		NM_003810	0.43	0.39	0.44	0.43		0.40		
p8 protein		AF13266		3.42			2.25	2.12		
<b>Inflammatory response</b>										
annexin A1		NM_000700	0.35	0.24			0.09			
chemokine ligand 1		NM_001511		0.19	0.41			2.69		
toll-like receptor 3		NM_003265	0.44	2.73			0.38			
interferon regulatory factor 7		NM_004030	4.54	2.37						
v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog		BC004490	15.62				77.68			
chemokine ligand 2		S69738	0.41	0.34			0.49	3.40		
<b>Intracellular protein transport</b>										
secretory granule, neuroendocrine protein 1		NM_003020		6.19			3.49	2.52		
karyopherin alpha 2		BC005978		0.46			0.41			
heat domain and RLD 2		NM_004667	0.44	0.48			0.32			
<b>Intracellular signaling cascade</b>										
Acidic nuclear phosphoprotein 32 family, member A		BE560202	0.33	0.39						
suppressor of cytokine signaling 2		NM_003877	0.29	0.42			0.17			
PTPL1-associated RhoGAP 1		NN_004815		0.46			0.27			
chemokine ligand 1		NM_001511		0.19	0.41			2.69		
SH3 and multiple ankyrin repeat domains 2		AB028945	0.49				0.42			
tensin-like SH2 domain containing 1		NM_022748	0.48	0.49			0.15			
epithelial cell transforming sequence 2 oncogene		NM_018098	0.46	0.27			0.15			

Biological Process/Gene Name		GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
DEP domain containing 1		NM_017779	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49
tensin		AL046979	0.38	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44
Rac GTPase activating protein 1		AU153848	0.32	0.37	0.11	0.11	0.45	0.45	0.45	0.45
<b>Ion transport</b>										
transmembrane 4 superfamily member 11		NM_015993	0.19	0.30	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
solute carrier family 22, member 5		NM_003060	0.31	0.50	0.38	0.38	0.47	0.47	0.47	0.47
potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J 8		NM_004982	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
solute carrier organic anion transporter family, member 1B3		NM_019844	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44
purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 5		U9396	0.42	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
<b>Lipid metabolism</b>										
platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform 1b, alpha		NM_000430	0.47	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
subunit 45LDa										
annexin A1		NM_000709	0.35	0.24	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4		AF182273	2.08	3.43	2.93	2.93	2.61	2.61	2.61	2.61
bile acid Coenzyme A: amino acid N-acyltransferase		NM_001701	0.31	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
apolipoprotein F		NM_001638	2.93	5.23	5.23	5.23	5.23	5.23	5.23	5.23
phospholipase A1 member A		NM_015900	0.38	2.35	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09
<b>Lipid transport</b>										
ATP-binding cassette, sub-family G, member 1		NM_004915	0.38	2.24	2.24	2.24	2.08	2.08	2.08	2.08
apolipoprotein F		NM_001638	2.93	5.23	5.23	5.23	5.23	5.23	5.23	5.23
oxysterol binding protein-like 3		A1202969	0.38	0.35	0.47	0.47	0.40	0.40	0.40	0.40
<b>Biological Process/Gene Name</b>		<b>GenID</b>	<b>Ace</b>	<b>Chl</b>	<b>Dic</b>	<b>Gem</b>	<b>Iso</b>	<b>Nit</b>	<b>Phe</b>	<b>Tet</b>
very low density lipoprotein receptor		L22431	4.12	4.37	4.37	4.37	2.57	2.57	2.57	2.57
<b>Metabolism</b>										
oxoglutarate dehydrogenase		NM_002541	0.43	0.43	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
insulin induced gene 1		BE300521	2.80	2.06	2.06	2.06	2.06	2.06	2.06	2.06
hypothetical protein FLJ12443		NM_024830	0.46	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
asparagine synthetase		NM_001673	5.18	5.61	5.61	5.61	4.43	4.43	4.43	4.43
acyl-CoA synthetase long-chain family member 1		NM_001995	2.22	2.84	2.84	2.84	2.84	2.84	2.84	2.84
aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1		NM_000692	0.36	0.27	0.27	0.27	0.24	0.24	0.24	0.24
acetyl-Coenzyme A carboxylase alpha		BE855983	0.40	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49
dehydrogenase/reductase member 2		AK000345	3.43	2.77	2.77	2.77	2.77	2.77	2.77	2.77
N-acetyltransferase 1		NM_000662	0.45	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
prion protein		AV725328	2.06	2.45	2.45	2.45	2.09	2.09	2.09	2.09
dicarbonyl/L-xylulose reductase		NM_016286	2.26	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33
hypothetical protein FLJ21934		NM_024743	0.22	0.38	0.38	0.38	0.35	0.35	0.35	0.35
aldehyde dehydrogenase 8 family, member A1		NM_022568	0.33	0.18	0.50	0.13	0.22	0.22	0.22	0.22
phosphoserine aminotransferase 1		NM_021154	2.44	2.44	2.44	2.44	2.53	2.53	2.53	2.53
<b>Mitosis</b>										
platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform 1b		NM_000430	0.47	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
SMC4 structural maintenance of chromosomes 4-like 1		AL136877	0.22	0.29	0.29	0.29	0.14	0.14	0.14	0.14
neural precursor cell expressed		AL136139	0.34	0.19	0.19	0.19	0.11	0.11	0.11	0.11
polo-like kinase 1		NM_005030	0.33	0.33	0.33	0.33	0.35	0.35	0.35	0.35

Biological Process/Gene Name		GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
cyclin B2		NM_004701	0.25	0.30	0.42	0.28				
CDC20 cell division cycle 20 homolog		NM_001255	0.04	0.08	0.28	0.04				0.14
ubiquitin-conjugating enzyme E2C		NM_007019	0.23	0.44						0.44
MAD2 mitotic arrest deficient-like 1		NM_002358	0.23	0.25	0.46	0.35				0.39
BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles		NM_001211	0.07	0.06	0.37	0.06				0.27
CDC6 cell division cycle 6 homolog		NM_001254	0.35			0.15				
kinetochore associated 2		NM_006101	0.20	0.49	0.22	0.30	0.22	2.03		0.31
kinesin family member 23		NM_004856	0.24	0.22	0.38	0.26				0.33
serine/threonine kinase 6		NM_003158	0.07	0.18	0.44	0.08				0.18
kinesin family member 2C		U63743	0.18	0.17	0.20	0.18				0.22
BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog		AF043294	0.18	0.17	0.23	0.20	2.10			0.27
TPX2, microtubule-associated protein homolog		AF098158	0.17	0.15	0.48	0.13				0.25
cell division cycle 2, G1 to S and G2 to M		D88357	0.05	0.05	0.28	0.06				0.16
cyclin A2		A1346350	0.11	0.40	0.12	0.27	0.12			0.21
cyclin B1		BE407516	0.36	0.25	0.47	0.08				0.35
chromosome condensation protein G		NM_022346	0.12	0.11	0.25	0.15	2.00			0.16
T-LAK cell-originated protein kinase		NM_018492	0.04	0.06	0.33	0.05				0.22
<u>Negative regulation of cell proliferation</u>										
CDC6 cell division cycle 6 homolog		NM_001254	0.35			0.15				
PRKC, apoptosis, WTI, regulator		A136206	0.47			0.45				
MAX binding protein		NM_020310		3.41						2.23
chemokine ligand 1		NM_001511		0.19	0.41					2.40
CHK1 checkpoint homolog		NM_001274	0.42			0.44				
cyclin-dependent kinase inhibitor 3		AF213033	0.39	0.31	0.41	0.27				0.37
<u>Positive regulation of cell proliferation</u>										
ubiquitin-conjugating enzyme E2C		NM_007019	0.23			0.44				
diphtheria toxin receptor		NM_001945	2.55			2.42				
FOS-like antigen 1		BC251266	0.49	0.42		0.20				
TTK protein kinase		NM_003318	0.12	0.12	0.26	0.12				0.17
nucleosome assembly protein 1-like 1		AL162068	0.38	0.41						
insulin-like growth factor 1		NM_000618	0.18	0.22						
<u>Positive regulation of E-kinase/kinase/NF-kappaB cascade</u>										
polo-like kinase 2		NM_006622		0.40		0.11				
tumor necrosis factor superfamily, member 10		NM_003810	0.43	0.39	0.44	0.43				0.40
heme oxygenase 1		NM_002133	2.09			0.40				2.81
caspase 1, apoptosis-related cysteine protease		U13700	0.23	0.42		0.40				
epithelial cell transforming sequence 2 oncogene		NM_018098	0.46	0.27		0.15				
<u>Regulation of cell cycle</u>										
neural precursor cell expressed		AL136139	0.34	0.39		0.11				
polo-like kinase 1		NM_005030	0.33	0.33		0.35				0.35
cyclin B2		NM_004701	0.25	0.30	0.42	0.28				
CDC20 cell division cycle 20 homolog		NM_001255	0.04	0.08	0.28	0.04				0.14
M-phase phosphoprotein 6		NM_005792		0.48		0.43				

Biological Process/Gene Name		GenID Ace Chl Dic Gem Iso Nit Phe Tet			
CDC45 cell division cycle 45-like	NM_003504	0.25	0.39	0.46	
MAX binding protein	NM_020310		3.41		2.23
TTK protein kinase	NM_003318	0.12	0.12	0.26	0.17
B-cell CLL/lymphoma 3	NM_005178	0.47		0.50	
activating transcription factor 5	BC005174		2.82		2.56
cyclin D1	M73554	0.45	0.20		
transforming growth factor, beta 2	M19154	0.24	0.19	0.29	
cyclin E2	AF112857		0.35	0.27	0.35
antigen identified by monoclonal antibody Ki-67	BF001806	0.14	0.42	0.14	0.32
cyclin B1	BE407516	0.36	0.25	0.47	0.35
MCM5 minichromosome maintenance deficient 5	AA807529	0.26	0.20	0.36	
platelet derived growth factor C	NM_016205		0.47	0.38	
FLJ2311 protein	NM_024680	0.44	0.48		2.80
<b>Regulation of transcription, DNA-dependent</b>					
chromobox homolog 3	NM_016587	0.49		0.48	
hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit	NM_001530		0.42	0.46	
basic helix-loop-helix domain containing, class B, 2	BG326045		0.45	0.36	
early growth response 1	NM_001964	3.77		6.42	
DNA (methyl)transferase 1	NM_001379		0.43	0.35	
MCM2 minichromosome maintenance deficient 2, mitotin	NM_004526	0.24	0.17		0.48
transcriptional co-activator with PDZ-binding motif	AA081084	0.47	0.46	0.38	
forkhead box M1	NM_021953	0.17	0.17	0.46	0.24
<b>Biological Process/Gene Name</b>					
activating transcription factor 3	NM_001674	4.19	5.05		
enhancer of zeste homolog 2	NM_004456		0.41		0.47
high-mobility group box 3	NM_005342		0.39		0.41
CCAAT/enhancer binding protein, alpha	NM_004364		3.31	2.05	
MAX binding protein	NM_020310		3.41		2.23
rearranged L-myc fusion sequence	NM_012421	2.01			2.03
hepatic leukemia factor	A1810712		2.85	2.08	0.49
SMAD, mothers against DPP homolog 7	NM_005904		0.32		0.41
B-cell CLL/lymphoma 3	NM_005178	0.47			0.50
period homolog 2	NM_022817		2.03		2.79
small nuclear RNA activating complex, polypeptide 1	NM_003082	0.48	0.46	0.28	
tubby like protein 3	AK024246		4.36		2.17
interferon, gamma-inducible protein 16	NM_005531	0.50			0.30
RNA-binding region containing 2	NM_004902	0.44			0.30
interferon regulatory factor 7	NM_004030	4.54	2.37		
core promoter element binding protein	BE675435		0.47	0.32	
Kruppel-like factor 5	AB030824	2.17			3.03
DNA-damage-inducible transcript 3	BC003637		6.69		2.91
RAR-related orphan receptor A	L14611	3.51	2.55		
aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like	AB000815	2.09	2.34		
MCM7 minichromosome maintenance deficient 7	AFZ79900	0.16	0.22		
tumor protein p53	K03199	0.36			0.46

Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
PHD finger protein 15	A1735639	0.30	0.37			0.30			
transcription factor 7-like 2	A1703074	0.46				0.15			
KIAA1055 protein	BF195608	0.48	0.42						
Nuclear factor YB	AL110126	0.42				0.26			
snail homolog 2	A1572079	0.34	0.34			0.09			
SRY-box 4	A1989477	0.43	0.39			0.49			0.41
V-myb myeloblastosis viral oncogene homolog -like 1	AW592266	0.24	0.16	0.23	0.32				0.27
cut-like 2	AB006631	0.07	0.17			0.07			
MCM5 minichromosome maintenance deficient 5	AA807529	0.26	0.20			0.36			
nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	S77154	2.09				2.19			
ets variant gene 5	X76184	2.34	2.12						
homodomain adjacent to zinc finger domain, 1A	NM_013448		0.48			0.28			
SMAD, mothers against DPP homolog 3	NM_015400	0.40				0.34			
v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene hom. B	NM_005461	29.23	2.01	4.13					
transcriptional coactivator tubedown-100	NM_025085		0.49			0.25			
zinc finger protein 331	NM_018555		3.25	2.14					
FLJ23311 protein	NM_024680	0.44	0.48						2.80
MCM4 minichromosome maintenance deficient 4	A1859865	0.36	0.23	0.49	0.31				0.50
zinc finger and BTB domain containing 20	AW974823	0.39				0.43	0.40		
KIAA1196 protein	AI693119	0.46				0.29			
<b>Response to stress</b>									
serum/glucocorticoid regulated kinase	NM_005627		0.38			0.43			
SMAD, mothers against DPP homolog 7	NM_005904		0.32			0.41			
Growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	AF087833	3.40				5.76			
MAP kinase interacting serine/threonine kinase 2	NM_017572	2.98	2.00						
<b>Signal transduction</b>									
platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform 1b	NM_000430	0.47				0.34			
hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit	NM_001530		0.42			0.46			
Importin 7	AL137335	0.48	0.46						
neural precursor cell expressed	AL136139	0.34	0.39			0.11			
regulator of G-protein signalling 2, 24kDa	NM_002923		0.48			0.38			
tumor necrosis factor superfamily, member 10	NM_003810	0.43	0.39	0.44	0.43				0.40
actinomedullin	NM_001124	3.33	2.18			2.65			
death-associated protein kinase 1	NM_004938		0.47			0.20			
EPH receptor A2	NM_004431		0.26			0.40			
diphtheria toxin receptor	NM_001945	2.55				2.42			
period homolog 2	NM_022817		2.03			2.79			
cholecystokinin	NM_000729	2.77				2.29			
ankyrin repeat domain 1	NM_014391		0.32			0.18			
toll-like receptor 3	NM_003265	0.44	2.73			0.38			
filamin B, beta	M62994	0.39	0.48						
unc-51-like kinase 1	AB018265	2.09	3.84						
insulin-like growth factor 1	NM_000618	0.18	0.22						
very low density lipoprotein receptor	L22431		4.12	4.37					2.57

Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
nucleoporin 205kDa	AW008531			0.39				0.42	
nucleoporin 160kDa	D83781			0.39				0.44	
solute carrier family 7, member 11	AA488687	2.19			3.80				2.86
mitochondrial folate transporter/carrier	NM_030780	0.43						0.26	
aquaporin 3	N74607							0.29	0.48
<b>Xenobiotic metabolism</b>									
cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4	AF182273	2.08		3.43		2.93		3.79	2.61
cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 7	AF315325			2.68		2.57		2.67	2.89
cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 5	X90579			3.77		3.31			3.09
hepcidin antimicrobial peptide	NM_021175	2.35						3.32	2.30

Biological Process/Gene Name	GenID	Ace	Chl	Dic	Gem	Iso	Nit	Phe	Tet
RAR-related orphan receptor A	LI4611	3.51		2.55					
A kinase anchor protein 12	AB003476	0.45		0.31					
aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like	AB000815	2.09		2.34					
caspase 1, apoptosis-related cysteine protease	U13700	0.23		0.42		0.40			
nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	S77154	2.09				2.19			
leupaxin	X77598	0.31		0.31					
fibroblast growth factor 21	NM_019113			38.45					6.66
ELK3, ETS-domain protein	AW573374	0.48		0.29		0.29			
<b>Transport</b>									
solute carrier family 7, member 5	AB018009			2.05		0.39			3.79
SMC4 structural maintenance of chromosomes 4-like 1	AL136877	0.22		0.29		0.14			
ATP-binding cassette, sub-family A, member 1	NM_005502	0.30				0.26			
carnitine palmitoyltransferase 1A	NM_001876	2.95				2.08			
secretory granule, neuroendocrine protein 1	NM_003020			6.19		3.49			2.52
ATP-binding cassette, sub-family G, member 1	NM_004915					2.24			2.08
ATP-binding cassette, sub-family A, member 8	NM_007168	0.38		0.49		0.42			
PDZ domain containing 1	NM_002614	0.42		0.38					
solute carrier family 3, member 1	M95548	0.11		0.29		0.26			
glucose-6-phosphatase, catalytic	NM_000151	2.63		3.79		2.06			
solute carrier family 17, member 3	NM_006632	0.30				0.49			
nucleoporin 62kDa	NM_012346			0.47		0.44			
F-box and leucine-rich repeat protein 5	AF142481			0.48		0.09			



表 5. モデル作成時に仮定したクラスと Cross Validation による検証結果

	model_a		model_b		training_c		training_d	
	Prediction	Cross Validation	Prediction	Cross Validation	Prediction	Cross Validation	Prediction	Cross Validation
APAP	1		2		2		2	
Chl	1		2		2		2	
Dic	1		2		2		2	
Iso	1		2		2	Error	2	
Gem	2		2		2		2	
DMN	1	Error	2		2		2	
Phe	1		2		2		2	
Tet	1		2		2		2	
Tro	1		2		1		2	
Pio	2		2		1		2	Error
Ros	2		2		1		2	
a-Me	2		2	Error	1		2	
c-Me	2		2		1		2	
PY1	2		2		1		2	Error
PY9	2		2		1	Error	2	
SAHA	2	Error	1		2		2	
HDAI-1	2		1		2		2	
HDAI-2	2		1		2		2	
HDAI-3	2		1		2		2	
HDAI-4	2		1		2		2	
Tam	2	Error	2		2		1	
Tam-H	2		2		2	Error	1	Error
Tam-OH	2	Error	2		2		1	

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)

分担研究報告書

分担研究課題:構造修飾した薬剤の合成・薬剤の構造修飾が  
遺伝子発現パターンに及ぼす影響の解析

分担研究者:宮田直樹

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 教授

研究要旨

肝毒性や腎毒性が報告あるいは想定されている薬剤(医薬品および医薬品候補化合物)を中心にその類縁体の合成を行い、生物作用の解析ならびに毒性試験を行った。また、それら一連の化合物を、分担研究者の二宮、鈴木らに提供し、ヒトのプライマリー細胞や動物細胞を用いた遺伝子発現の解析を行い、毒性と遺伝子発現との相関に関する知見、薬剤の構造修飾が遺伝子発現パターンに及ぼす影響の解析を行ってきた。最終年度である本年度は、引き続き、Ⅱ型糖尿病治療薬として有用なグリタゾン類(PPAR- $\gamma$ 作用薬)と、遺伝子発現を制御し新しいタイプの分子標的制がん剤として期待されているヒストン脱アセチル化酵素阻害剤(HDAC阻害剤)について、新規誘導体を合成し、生物活性試験(脂肪細胞への分化誘導試験、HDAC酵素活性阻害試験など)を行った。その結果、新規な構造を有するPPAR- $\gamma$ 作用薬およびHDAC阻害剤を見いだした。これらの化合物は、毒性軽減をめざして合成した化合物であり、より安全性の高い薬剤を創製する目的で、毒性発現にかかわる遺伝子発現パターン解析を行うための有用な化合物となる。

研究協力者

中川秀彦 名古屋市立大学大学院  
薬学研究科助教授  
鈴木孝禎 名古屋市立大学大学院  
薬学研究科助手  
小原有弘 国立医薬品食品研究所  
研究官  
名古屋市立大学大学院  
薬学研究科研究員

養可能なプライマリーヒト肝・腎細胞を用いて、薬剤曝露時の網羅的遺伝子発現解析を行い、毒性発現に関わる遺伝子群の同定ならびに遺伝子発現パターンのデータベース構築を行う。同時に、薬剤の構造修飾が遺伝子発現に及ぼす効果の解析を行い、より安全性の高い薬剤を設計するための知見を得る。また、ヒトでの安全性の高い薬剤開発を可能にする目的で、実験動物から得られた遺伝子発現解析のデータをヒトへ外挿するための基本手法の開発を行い、薬剤の副作用を回避あるいは軽減する評価法を確

A. 研究目的

本研究事業では、新規技術による長期培

立する。

分担研究者宮田は、肝毒性や腎毒性が報告あるいは想定されている薬剤(医薬品および医薬品候補化合物)を中心に、その類縁体の合成を行う。薬剤としては、核内受容体結合性薬剤、遺伝子発現制御薬剤を取り上げた。一連の化合物について分担研究者の二宮、鈴木らが遺伝子発現の解析を行い、毒性と遺伝子発現との相関に関する知見、薬剤の構造修飾が遺伝子発現パターンに及ぼす影響の解析を行っている。

最終年度である本年度も、引き続き、II型糖尿病治療薬グリタゾン類(PPAR- $\gamma$ 作用薬)と、遺伝子発現を制御し新しいタイプの分子標的制がん剤として期待されているヒストン脱アセチル化酵素阻害剤を取り上げ、構造修飾が遺伝子発現に及ぼす影響を解析するため新規誘導体を合成し、遺伝子発現の解析実験に供した。

本研究を遂行することにより、ゲノム創薬の根幹となる薬剤の毒性発現に係わるヒトでの遺伝子発現情報が収集できる。その結果、医薬品候補化合物等について迅速・効率的にヒトでの安全性を予測することが可能になり、安全性が高い薬剤の開発するためのトキシコゲノミックスの基盤技術開発に役立つ。

## B. 研究方法と結果

本研究では、プライマリーヒト肝・腎細胞を用いて遺伝子発現を検討する。本年度も引き続き、名古屋市立大学大学院薬学研究科にて誘導体の化学合成を行うとともに、毒性・薬効の評価を行った。合成化合物のヒトプライマリー細胞を用いた遺伝子発現解析は、分担研究者である第一化学薬品薬物動態研究所(二宮)が行った。動物実験データ

をヒトに外挿するため、動物細胞を用いた遺伝子発現実験等は、国立医薬品食品研究所(鈴木)らが担当した。

### 1. PPAR- $\gamma$ 作用薬

日本における糖尿病は患者が700万人、また糖尿病予備軍が700万人存在すると言われており、その大部分はII型糖尿病である。II型糖尿病とはインスリン分泌不全に加えインスリン抵抗性が備わることによりインスリンの作用不足をきたし、高血糖に至る疾患である。インスリン分泌不全は主に遺伝的要因によるとされ、他方インスリン抵抗性は遺伝的な要因もあるが、主には高脂肪食、運動不足などの生活習慣からくる肥満がインスリン抵抗性の原因となる。

日本において30~40年前には糖尿病患者は少なかったが、この40年で20倍以上の人が糖尿病になっている。この理由に日本人はインスリンの分泌能が欧米人に比べて低いという体質に加えて、生活習慣が欧米化したことが原因として挙げられる。高脂肪食、運動不足などから来る肥満の結果生じるインスリン抵抗性がインスリン分泌能低下の素因に加わり、日本において糖尿病が激増している。実際に経年的にボディ・マス・インデックス(BMI)の変化を見てみると、男性も女性も今から50年前は、BMIが21から22ともっとも長生きができるとされる値であったが、この50年間、男性のBMIは全ての年齢層で右肩上がりに増大しており、肥満症と定義されるBMI25以上の人が、現在、日本に、男性では1300万人いる。女性は20代、30代ではダイエツ

トブームや痩せ願望からBMIが年々低下しているが、40代以降の女性は、男性と同程度の肥満傾向であり、肥満と診断される者は女性でも1000万人いるとされる。

肥満になってもインスリン抵抗性になる人とならない人がいるが、その鍵分子として考えられるようになったのはPPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ )という脂肪細胞に発現する転写因子である。これは1990年代の前半に欧米で発見された核内受容体型転写因子であり、94年にハーバード大学の研究者が、PPAR- $\gamma$ は前駆脂肪細胞から脂肪細胞を分化によって作る転写因子であり、分化のマスターレギュレーターであると発表した。また、分化を終えた成熟した脂肪細胞もPPAR- $\gamma$ を豊富に発現しており、分化を終えた後もPPAR- $\gamma$ は何らかの役割を果たしているということも明らかとなっている。

PPAR- $\gamma$ の役割を調べるために、PPAR- $\gamma$ のヘテロ欠損マウスを使った実験が行われた。和食(=高炭水化物)を食べている時は、普通の野生型マウスと同じような体重であったが、食物を洋食(=高脂肪食)に変えると野生型マウスのみ非常に肥満して、PPAR- $\gamma$ ヘテロ欠損マウスはインスリン抵抗性にならないことが明らかになった。このような実験により「PPAR- $\gamma$ 活性の高いヒトが肥満になって、活性の低いヒトはならないのではないか」という仮説が立てられた。

ヒトにおいてもPPAR- $\gamma$ のSNP(一塩基多型)が存在し、12番目のアミノ酸がプロリンからアラニンのへと変わった

PPAR- $\gamma$ 蛋白を有する人たちが存在することが明らかとなっている。アラニン型はプロリン型に比べてPPAR- $\gamma$ の活性が約2/3に落ちており、アラニン型のヒトの臨床症例を調べると、太りにくく、糖尿病発症率が60%抑制されていることがわかった。日本人ではPPAR- $\gamma$ の12番目のアミノ酸のアラニン型を持っているヒトは4%しかいない。一方、欧米人の場合はアラニン型が20%である。こうした所見とマウスの所見からPPAR- $\gamma$ の役割が節約遺伝子仮説で理解された。節約遺伝子仮説とは長い飢餓の時代、食べたものを蓄積して消費しないほうが生存に有利であるということで、40年ほど前に提唱されたが、その本体については詳しくわかっていなかった。しかしPPAR- $\gamma$ がThrifty gene(儉約遺伝子)であるということが1999年に提唱されThrifty geneであるが故に、それが現代のエネルギーが過剰な生活習慣のもとでは、肥満やインスリン抵抗性の原因となると考えられている。

#### 1-1 PPAR- $\gamma$ の転写活性化機構、内因性のリガンドについて

PPARは核内受容体型転写因子であり、PPAR- $\gamma$ は同じ核内受容体型転写因子RXR(retinoid X receptor)とヘテロ二量体を形成してPPAR応答性部位(PPAR responsive element; PPRE)に結合する。PPAR/RXRヘテロ二量体にPPARもしくはRXRのアゴニストが結合すると、コリプレッサーの解離とCBP[cAMP response element binding protein (CREB) binding protein]などのコアクチ