



トキシコゲノミクス プロジェクト

厚生労働省：萌芽的先端医療技術推進研究事業

トキシコゲノミクス手法を用いた医薬品安全性評価
予測システムの構築とその基盤に関する研究

期 間：平成14年度(2002)～平成18年度(2006)

研究費：厚生労働科学研究費補助金

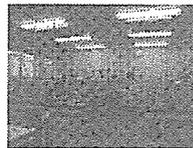
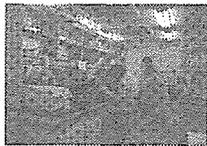
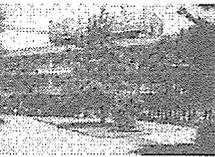
参加企業からの共同研究費

産官共同プロジェクト

平成14年度(2002)～平成16年度(2004)

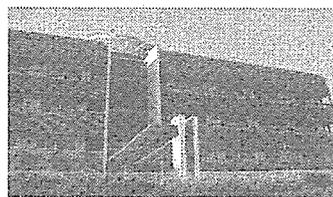


国立医薬品食品衛生研究所



17社

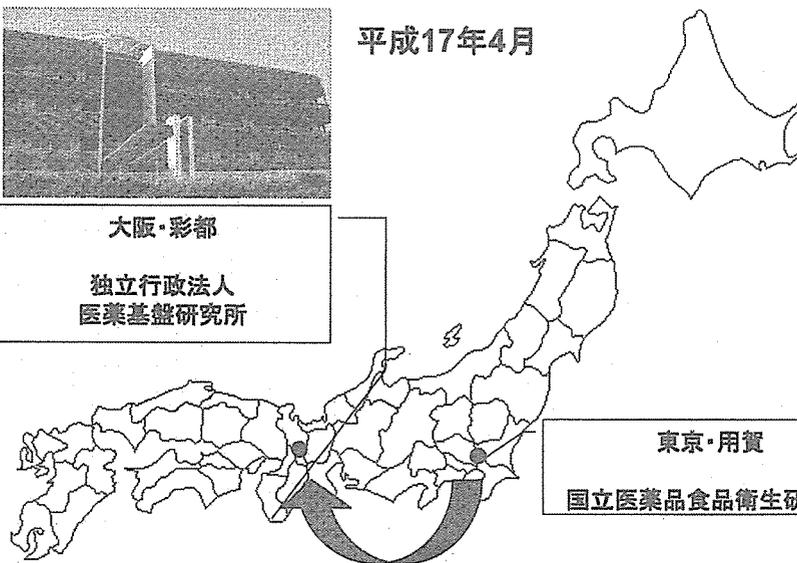
エーザイ
大塚製薬
小野薬品工業
キッセイ薬品工業
三和化学研究所
三共
塩野義製薬
住友製薬
大日本製薬
第一製薬
武田薬品工業
田辺製薬
中外製薬
藤沢薬品工業
持田製薬
三菱ウエルファーマ
山之内製薬



大阪・彩都

独立行政法人
医薬基盤研究所

平成17年4月



東京・用賀

国立医薬品食品衛生研究所

産官共同プロジェクト

平成17年度(2005)～平成18年度(2006)



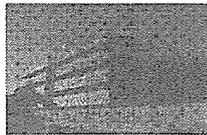
国立医薬品食品衛生研究所

National Institute of Health Sciences



(独)医薬基盤研究所

National Institute of Biomedical Innovation



15社

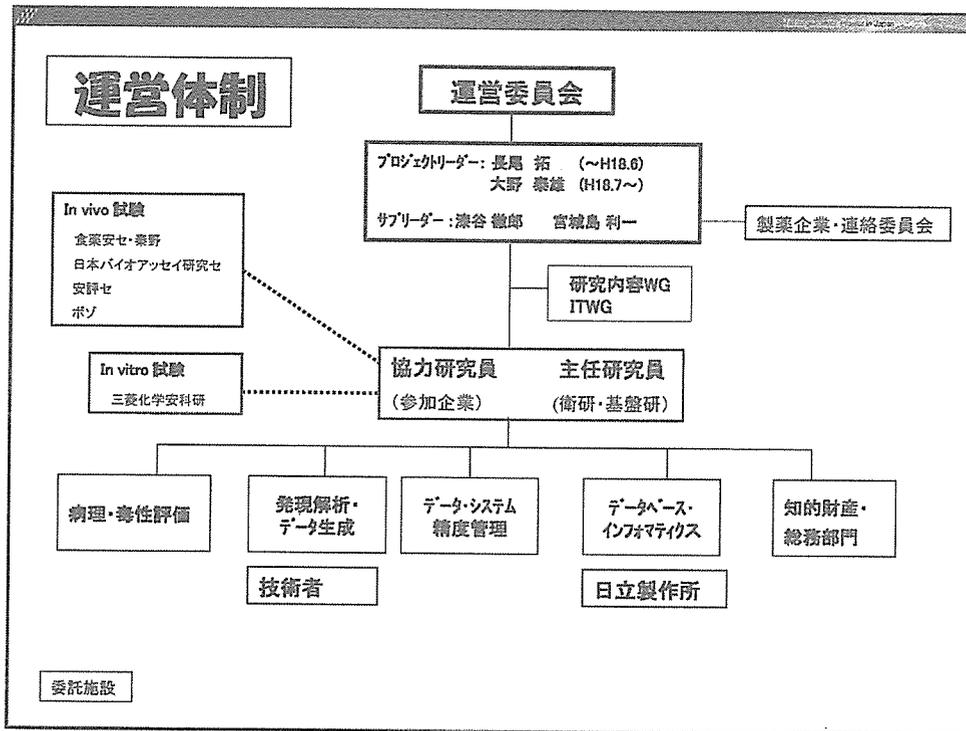
アステラス製薬
エーザイ
大塚製薬
小野薬品工業
キッセイ薬品工業
三和化学研究所
三共
塩野義製薬
大日本住友製薬
第一製薬
武田薬品工業
田辺製薬
中外製薬
持田製薬
三菱ウエルファーマ

目的

- 毒性学データ、遺伝子発現データの取得
- 良質で役に立つ大規模トキシコデータベースの構築
- 毒性を評価・予測するシステムの開発



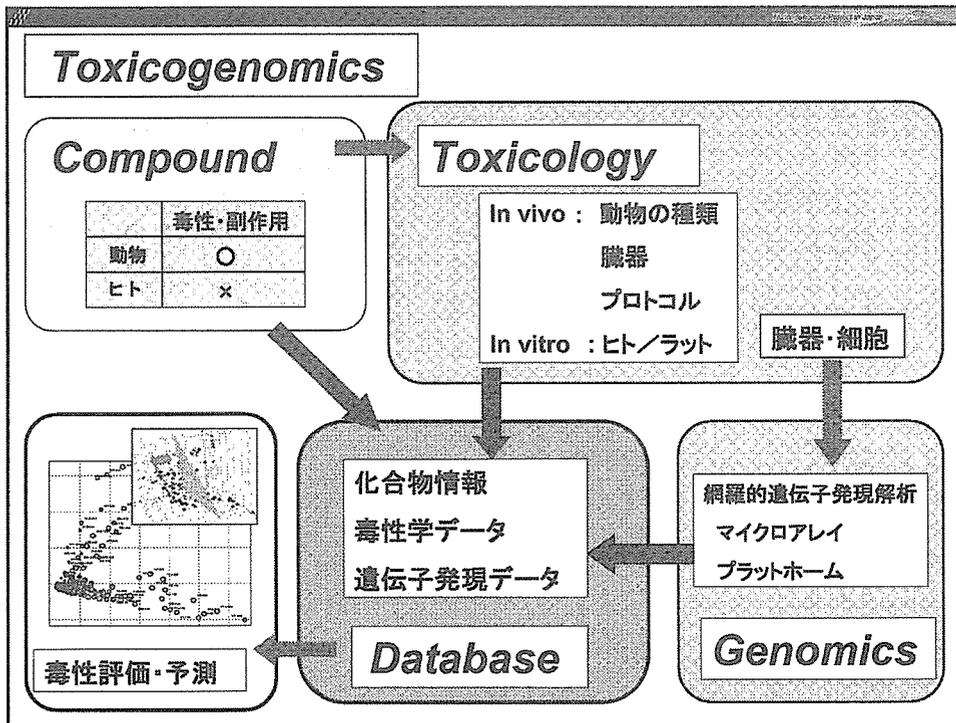
- 創薬研究の初期段階で利用
⇒ 研究開発の効率化、期間の短縮
- より安全性の高い医薬品の創製



Toxicogenomics Project in Japan

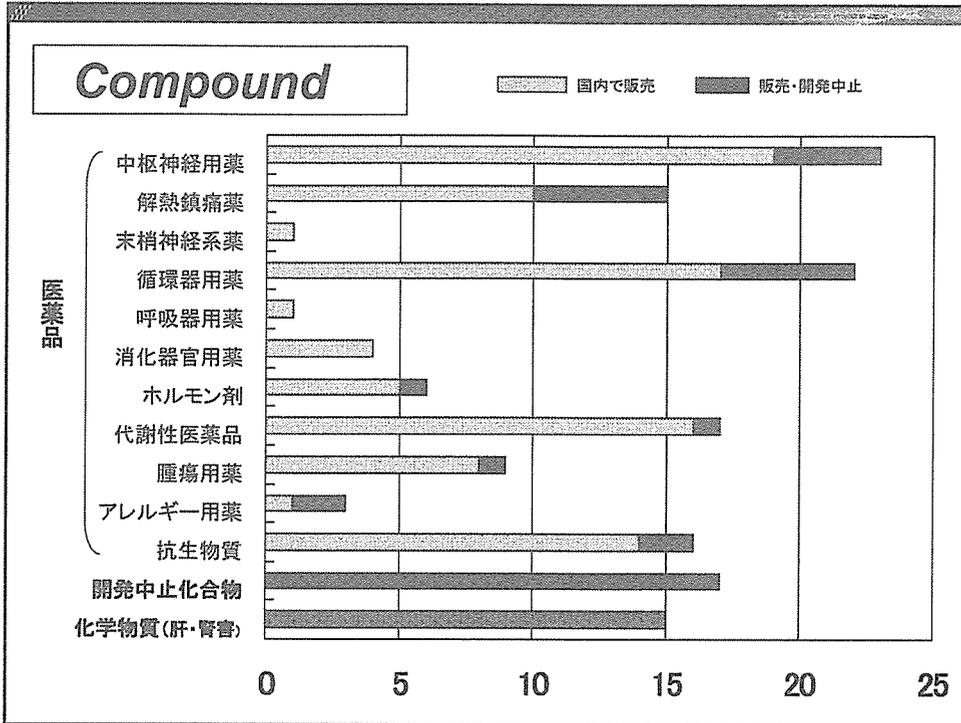
TGP

研究の概要



Compound

		化合物数
医薬品	肝・腎臓で副作用発現	118
	肝臓で副作用のため発売中止	
	副作用のため開発中止化合物 (参加企業提供)	17
化学物質	肝・腎障害モデル化合物	15
	計	150
作用機序が明確な化合物		9



Toxicology *in vivo* 試験

使用動物: 6週齢雄性Crl:CD(SD) ラット

対照臓器: 肝臓、腎臓

時点: 8

単回: 3 6 9 24 時間

反復: 3 7 14 28日

剖検: 投与日の翌日

用量: 4

0
低
中
高

GLP準拠

毒性学データ: 体重・臓器重量

血液、血液化学(38項目)

病理組織(所見、画像)

Toxicology *in vitro* 試験

ラット: 初代培養肝細胞

ヒト: 初代培養肝細胞

時点: 3  時間

用量: 4

0
低
中
高

LDH放出量

DNA量

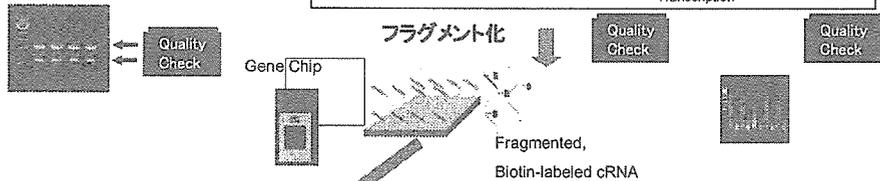
Genomics

1. RNAの抽出

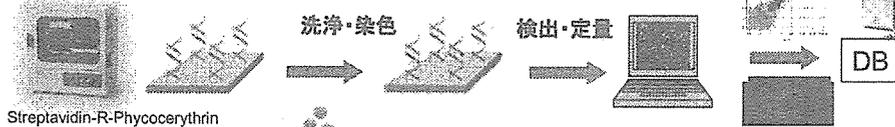
ヒト・ラット 肝細胞 ラット 肝臓・腎臓

2. cDNA / cRNA合成

Reverse Transcription → cDNA In vitro Transcription → Biotin-labeled cRNA

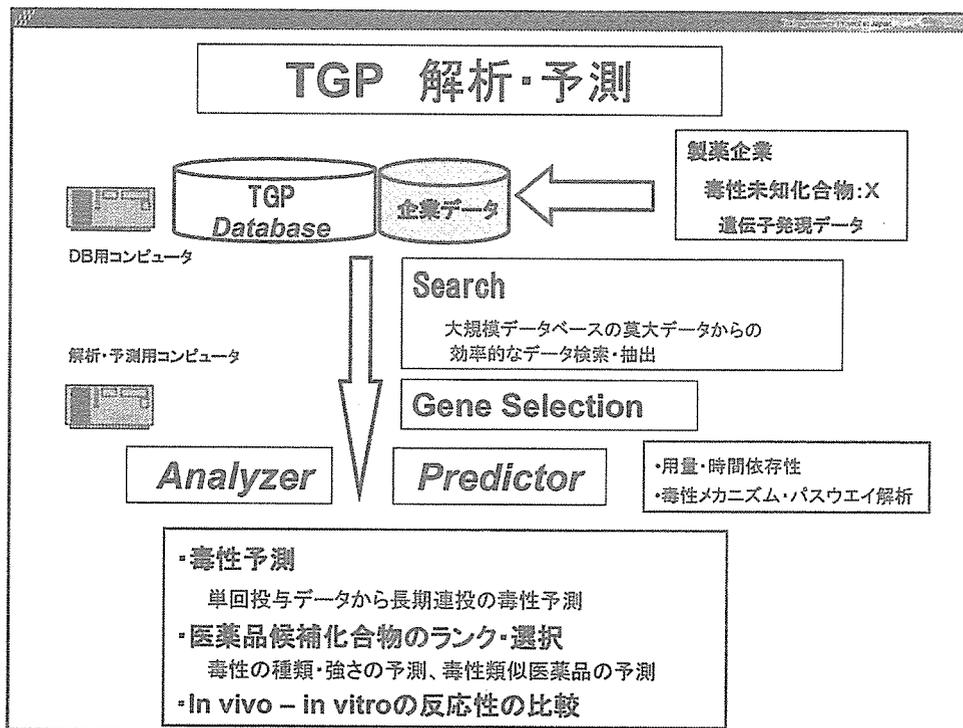
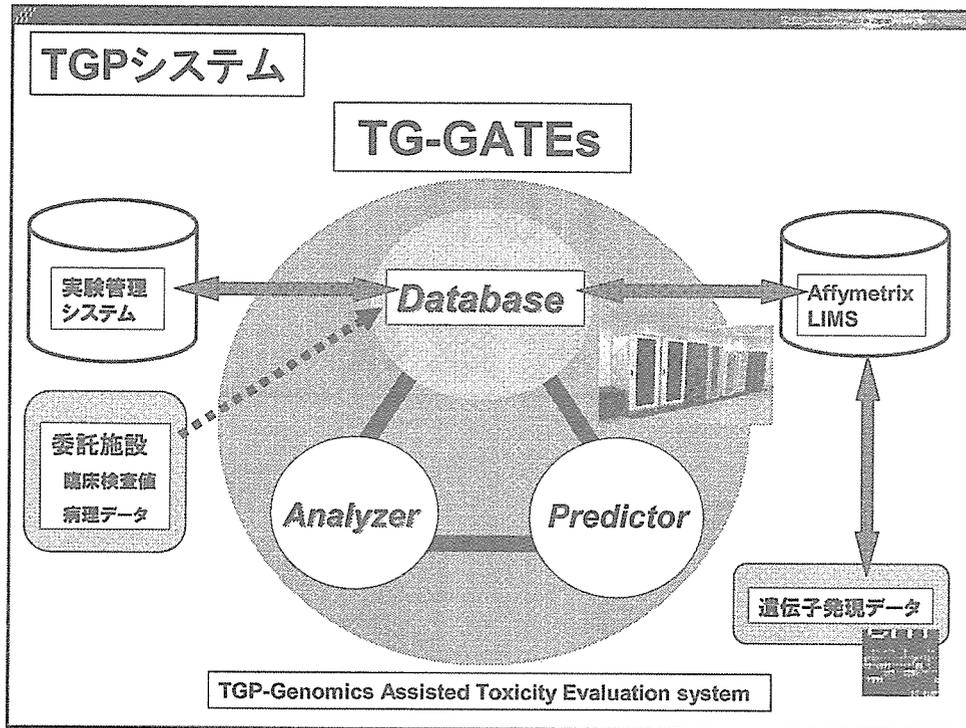


3. ハイブリダイゼーション



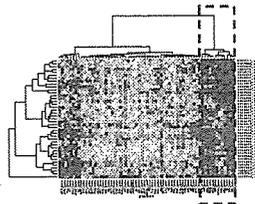
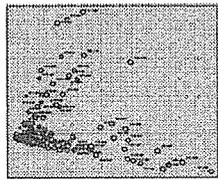
4. 蛍光標識

5. スキャニング / データ処理



TGP

研究成果



Data

データ量・品質：世界最大規模のトキシコゲノクスデータ

高品質
同一プラットフォーム
精度管理

遺伝子発現データ

GeneChip : >25,000枚

ラット	約 30,000遺伝子
ヒト	約 50,000遺伝子

測定サンプル数

肝臓	ラット	15,000
腎臓	ラット	2,400
肝細胞	ラット	3,900
肝細胞	ヒト	2,800

データ量
膨大な生データ

毒性学データ

医薬品・化合物数：150

動物数：25,000匹

毒性学データ：

体重・臓器重量
血液学・血液化学：38項目
病理所見
病理画像

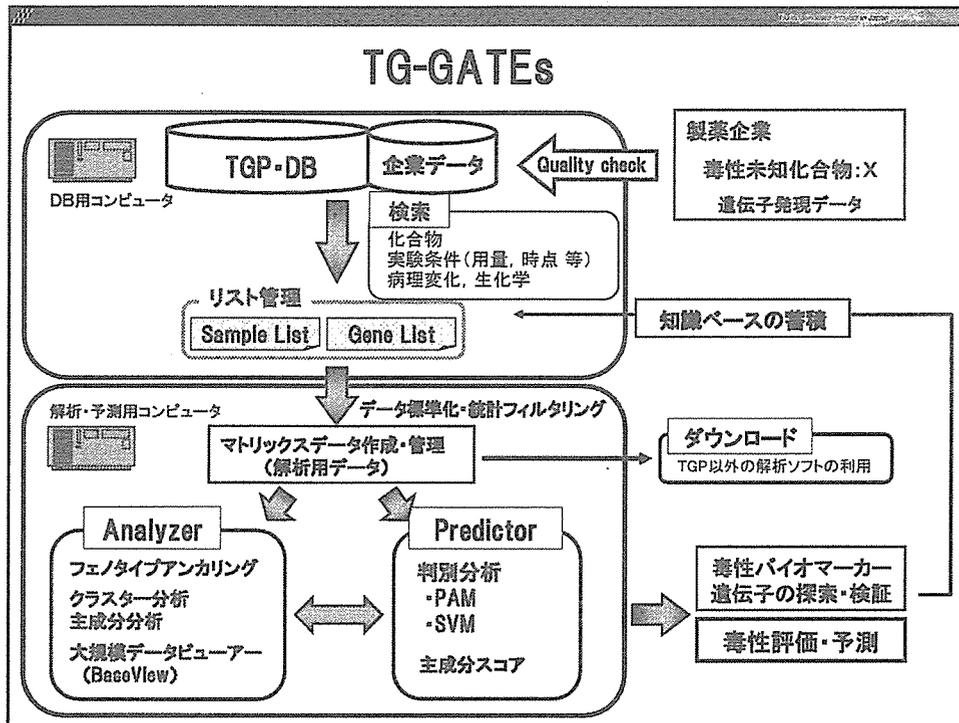
病理組織標本：50,000枚

高品質
GLP準拠
同一プロトコル

データ量
豊富な実験条件
多様な測定項目
膨大な生データ

文献情報

化合物情報
遺伝子アノテーション情報



データ登録

Toxicogenomics Data Import

← 実験条件などのパラメーターファイル

← genechipデータのファイル

マトリクスファイルを用いて複数アレイの一括登録ができる

- 新規データ登録・削除は管理者権限の人のみ可能
- 生化学データや病理データは、excelマクロで登録

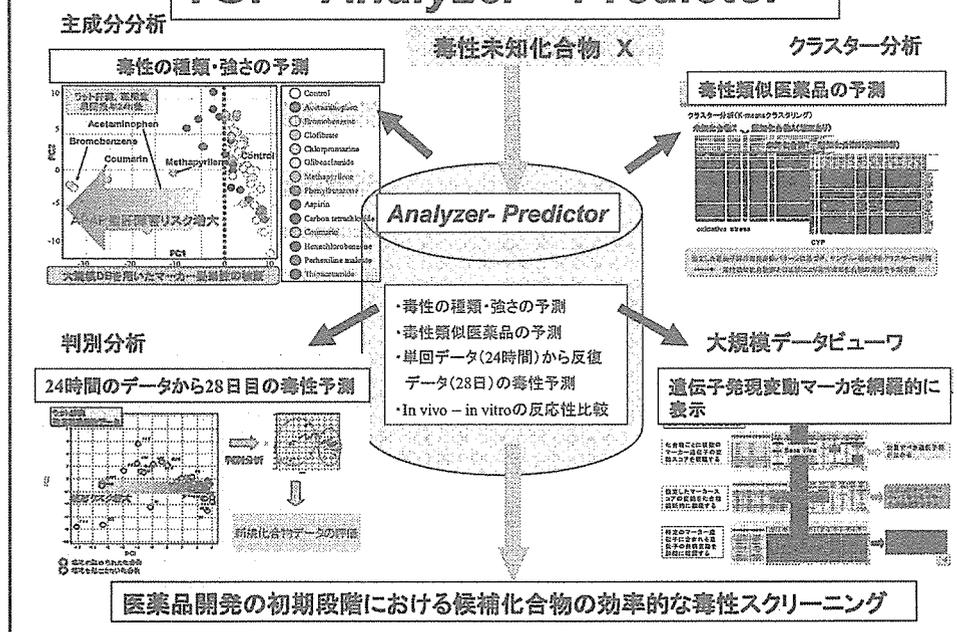
アレイの種類、測定時点、動物種、臓器組織などを新規に設定することができる

検索：実験条件、血液生化学・病理データ

The screenshot shows a complex web interface with multiple panels. On the left, a sidebar lists navigation options like 'System Version Manual' and 'Data Search'. The main area is divided into 'Experimental Conditions' and 'Pathology & Clinical Parameters'. The 'Experimental Conditions' panel includes fields for 'Subject Name', 'Compound', and 'Experiment'. The 'Pathology & Clinical Parameters' panel has sections for 'Pathology Change' and 'Blood Chemistry Tests'. Several callout boxes provide additional context:

- 実験情報** (Experimental Information):
 - 動物種 (Animal Species)
 - iv vivo/in vitro
 - 溶媒 (Solvent)
 - CRO
 - アレイの種類 (Array Type)
 - 時点 (Time Point)
 - 投与量 (Dose)
 - etc
- 病理変化** (Pathology Change):
 - 部位・種類・強さを組み合わせて検索 (Search by location, type, and intensity)
- 血液生化学検査など** (Blood Chemistry Tests, etc.):
 - 検定の有意性や測定値、項目を組み合わせて検索 (Search by significance, measurement values, and items)
- 条件の保存** (Save Conditions):
 - 検索条件を保存して再検索 (Save search conditions for reuse)

TGP Analyzer - Predictor



トキシコゲノミクスプロジェクトの研究成果:まとめ

○研究成果 医薬品開発の初期段階での毒性スクリーニングに利用

1. トキシコゲノミクスデータの取得

- ・医薬品に関する品質・データ量において世界最大規模のデータ

2. トキシコゲノミクスデータベースの構築

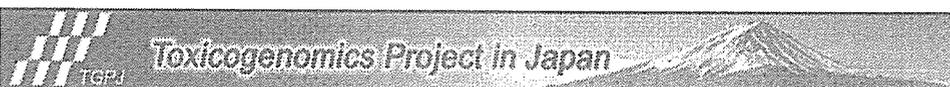
- ・製薬企業独自のデータベースとの統合可能
- ・大規模データベースから毒性に関連する遺伝子情報を効率的に検索・抽出

3. 解析・毒性予測システムの開発

- ・多様・大規模な統計処理
- ・多角的な予測アプローチ(クラスター分析、主成分分析、判別分析等)
- ・バイオマーカーや判別器を探索・検証・蓄積でき、知識ベースとして利用可能

○研究成果の発表

1. 学術論文 論文:6、投稿準備中:5
2. 学会発表 国内学会:23、 国外学会:14
3. 招待講演 国内学会:15、 国外学会: 7
4. 総説 英文:2 邦文:1



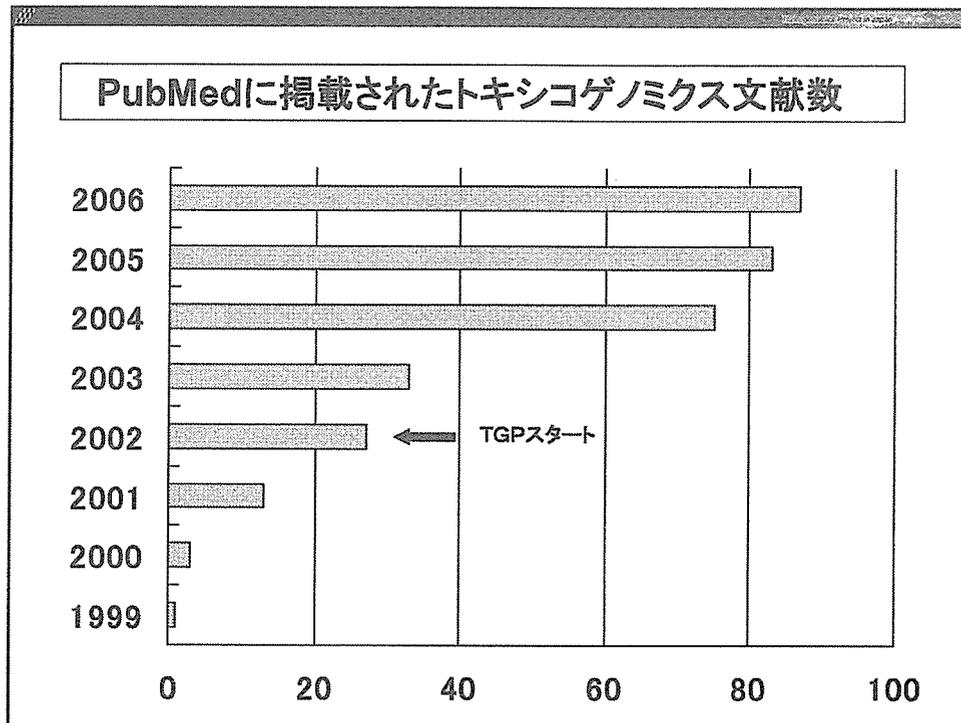
課題・展望

壁

- (バイオ)インフォマティクス
- データバリデーション
- 産官共同プロジェクト

課題

- 対象臓器(ラット):肝臓・腎臓
- 毒性バイオマーカー(知識ベース)
- レギュラトリーサイエンス
- 手法:ゲノミクス
- ヒトへの外挿



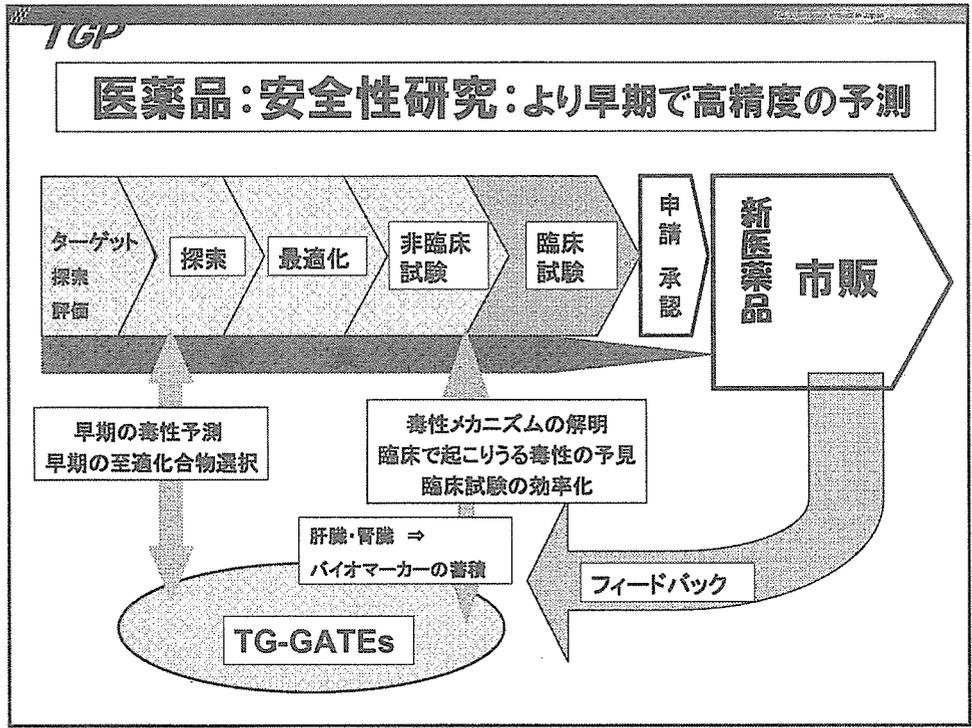

 U.S. Food and Drug Administration
 

**2005.3 Guidance for Industry
Pharmacogenomics Data Submission**

**2006.3 Critical Path Opportunities Report
Improving Development Sciences will Improve Treatment**
New areas of science, particularly genomics, proteomics, and related disciplines as well as bioinformatics, hold great promise for better scientific understanding and prevention of safety problem.

2006.9 MicroArray Quality Control (MAQC)
Result: Nature Biotechnology 2006, No.9

2006.11 Recommendation for the Generation and Submission of Genomic Data



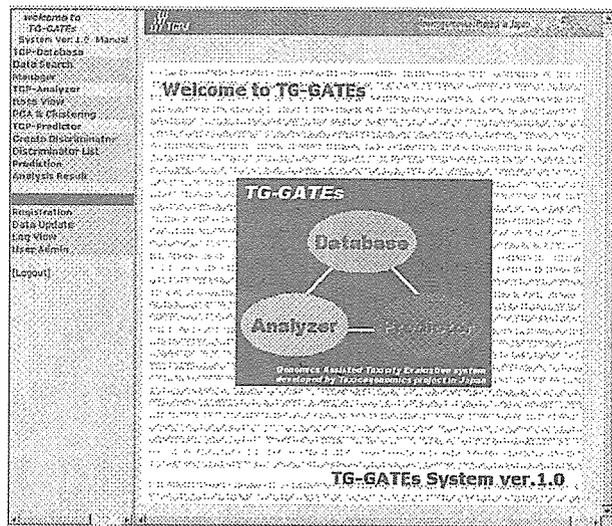
TGPのIT戦略

トキシコゲノミクスプロジェクト
小野 敦

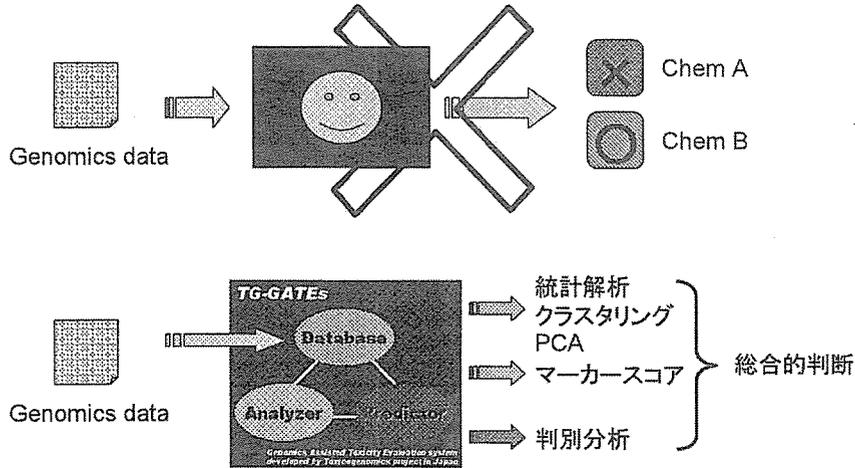
平成19年 2月13日(火)

TG-GATES

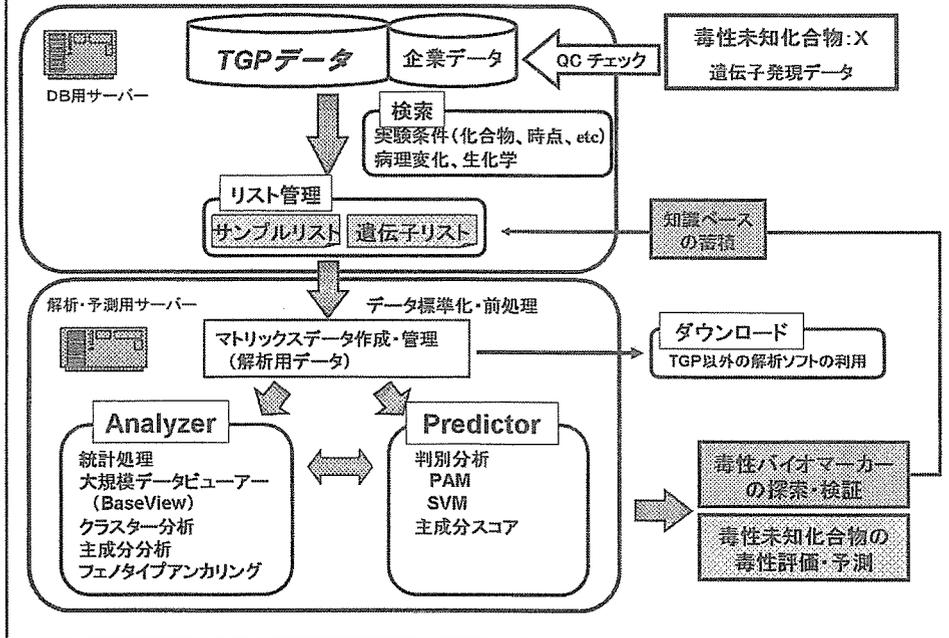
Genomics Assisted Toxicity Evaluation System



TG-GATES is not "Black-box type" prediction system



TG-GATESを使った解析・予測の概要



遺伝子発現解析の目的と方法

プロファイリング

ある化合物の作用を解析



ひとつの実験セット内での抽出
変動遺伝子の抽出
アノテーションアナリシス

メカニズム解析

ある作用を有する化合物群
で共通に変動する遺伝子
(共通変動遺伝子)



化合物ごとに解析
?) 1群3例での統計検定
化合物横断的な解析
?) 実験セット間のばらつき

作用予測

ある作用を有する化合物群
に特異的に変動する遺伝子
(特異的変動遺伝子)



共通性と特異性

バイオマーカー

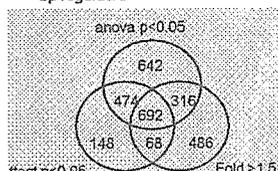
統計検定とアノテーションアナリシス

TGP Exp.0040

Chem: acetaminophen
Rat: Cj: CD(SD)
CRO: FDSC
Dose: 0, 300, 600, 1000 mg/kg
Time: 24h after dosing
Array: Affymetrix RAE230A

Global mean normalize
All absentを除外
/ 10525 probeset

- up regulated

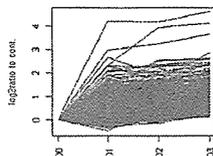


ttest p<0.05

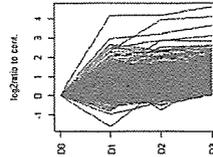
アノテーション解析

DAVID Bioinformatic Resources 2006
<http://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp>

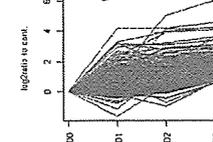
ttest p<0.05 - 1382 probeset



Anova p<0.05 - 2124 probeset



Fold change > 1.5 - 1562 probeset



KEGG PATHWAY	Count	%	PValue
RIBOSOME	27	1.85%	0.000
BASAL TRANSCRIPTION FACTORS	5	0.32%	0.004
AMINOACYL-TRNA SYNTHETASES	5	0.32%	0.004
PENTOSE AND GLUCURONATE INTERCONVERSION	6	0.43%	0.005
PORPHYRIN AND CHLOROPHYLL METABOLISM	7	0.51%	0.004
GLUTATHIONE METABOLISM	9	0.65%	0.013
GLUTAMATE METABOLISM	7	0.51%	0.017
METABOLISM OF XENOBIOTICS BY CYTOCHROME	10	0.72%	0.002
STARCH AND SUCROSE METABOLISM	7	0.51%	0.029

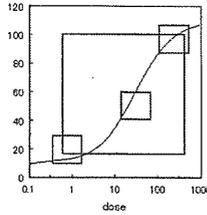
KEGG PATHWAY	Count	%	PValue
RIBOSOME	24	0.016	4.6E-13
LONG-TERM POTENTIATION	24	0.013	0.002
TIGHT JUNCTION	25	0.013	0.000
PENTOSE AND GLUCURONATE INTERCONVERSION	5	0.003	0.004
BASAL TRANSCRIPTION FACTORS	4	0.002	0.004
AMINOACYL-TRNA SYNTHETASES	5	0.002	0.005
PORPHYRIN AND CHLOROPHYLL METABOLISM	6	0.003	0.007
FC EPSILON RI SIGNALING PATHWAY	19	0.009	0.000
GLUTATHIONE METABOLISM	11	0.002	0.000
METABOLISM OF XENOBIOTICS BY CYTOCHROME	14	0.005	0.002
GLYCOSPHINGOLIPID METABOLISM	8	0.002	0.014
GLUTAMATE METABOLISM	8	0.002	0.014
LONG-TERM DEPRESSION	20	0.004	0.002
PROTEASOME	9	0.002	0.002
STARCH AND SUCROSE METABOLISM	9	0.002	0.002

KEGG PATHWAY	Count	%	PValue
CELL CYCLE	19	0.012	0.004
GLUTATHIONE METABOLISM	10	0.004	0.007
GLUTAMATE METABOLISM	9	0.002	0.007
BASAL TRANSCRIPTION FACTORS	4	0.002	0.005
PENTOSE AND GLUCURONATE INTERCONVERSION	5	0.002	0.014
METABOLISM OF XENOBIOTICS BY CYTOCHROME	11	0.007	0.004
LONG-TERM POTENTIATION	14	0.003	0.002
PORPHYRIN AND CHLOROPHYLL METABOLISM	8	0.002	0.008
BIOSYNTHESIS OF STEROIDS	5	0.002	0.005
LONG-TERM DEPRESSION	15	0.006	0.002

投与量依存性の検討

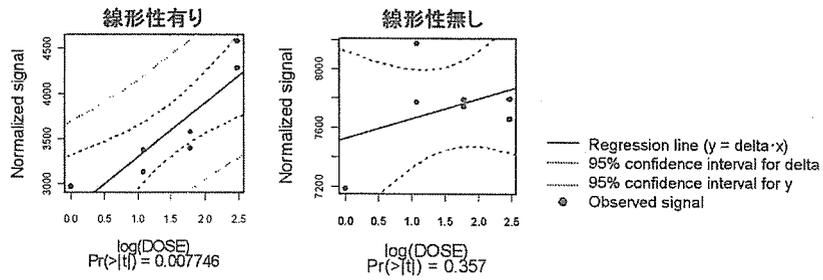
用量-反応性の評価

投与量に依存して
一方向性の変化を
示すかどうか



多くの生物反応は、シグモイド
曲線に回帰する
↓
遺伝子発現も従うと仮定

GLM(General Linear Model)による線形性の評価



Exp.0040での統計手法の比較

