

Drug Metab Dispos, 35:1949-1955, 2007

菅野 純, 北嶋 聡, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 中津則之, 高木篤也, 小川幸男, 児玉幸夫 Percellome Project による毒性トランスクリプトミクスの新しい試み
細胞工学(2007) 26: 71-77

菅野 純, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 北嶋 聡, 中津則之, 児玉幸夫, 高木篤也 トキシコゲノミクスの新展開: Percellome プロジェクトによる 2, 3, 7, 8-TCDD-2, 3, 7, 8-TCDF 比較 細胞工学(2007) 26: 1391-1396

2. 学会発表

T. Urushidani, A. Ono, N. Nakatsu, T. Miyagishima, and Y. Ohno. The second stage of the Toxicogenomics Project in Japan: a multicenter validation study of gene expression in rat liver. 47th Society of Toxicology, Seattle, USA, Mar., 2008.

M. Hirode, A. Ono, T. Miyagishima, T. Nagao, Y. Ohno, and T. Urushidani. Gene expression profiling in rat liver treated with compounds inducing phospholipidosis. 47th Society of Toxicology, Seattle, USA, Mar., 2008.

T. Uehara, A. Ono, T. Miyagishima, T. Nagao, Y. Ohno, and T. Urushidani. Toxicogenomics of drug-induced proximal tubular injury by analyzing gene expression profiles in the kidney. 47th Society of Toxicology, Seattle, USA, Mar., 2008.

大野泰雄: 第1期トキシコゲノミクスプロジェクトの成果と今後—バイオマーカーの探索 第9回創薬ビジョンシンポジウム、2008年1月

Y. Ohno. Results and perspectives of the first stage of the Toxicogenomics Project in Japan. 第81回日本薬理学会年会シンポジウム、2008年3月

漆谷徹郎: トキシコゲノミクスからみえてくること 薬学会関東支部シンポジウム 2007年11月

漆谷徹郎: トキシコゲノミクスデータベース (TG-GATEs) を用いた肝毒性の予測 第14回日本免疫毒性学会学術大会特別講演 2007年9月

菅野純、Chemosphere-Biosphere Interaction 解析ツールとしての Percellome Toxicogenomics、第34回日本トキシコロジー学会学術年会 特別講演 2007年6月27日、東京

北嶋 聡、相崎健一、五十嵐勝秀、中津 則之、菅野 純、モデル催奇形性物質を用いた発生トキシコゲノミクス (Percellome 手法) 解析、第34回日本トキシコロジー学会学術年会、2007年6月27-29日、東京

五十嵐 勝秀、種村健太郎、中津 則之、相崎 健一、北嶋 聡、菅野 純、化学物質によるエピジェネティック制御機構障害の神経幹細胞をモデルにした Percellome 解析、第

34 回日本トキシコロジー学会学術年会、
2007年6月27-29日、東京

Jun Kanno, Percellome Toxicogenomics
Project and its possible contribution to 3R's,
6th World Congress on Alternatives &
Animal Use in the Life Sciences(WC6:第6
回国際動物実験代替法会議) (Aug.21-25,
2007), Aug.23, Tokyo Oral

種村 健太郎、五十嵐 勝秀、北嶋 聡、菅
野 純、エストロゲン受容体 α 型の非翻訳領
域遺伝子改変マウスの脳構造および脳機能
解析、第24回日本疾患モデル学会総会、
2007年8月31日-9月1日、つくば、口演

Kanno J, Aisaki K, Igarashi K, Nakatsu N,
Kodama Y, Takagi A, Kitajima S,
TCDD-TCDF COMPARISON OF THE
MOUSE LIVER TRANSCRIPTOME BY
PERCELLOME ANALYSIS - A SEARCH
FOR TEF GENE BY TIME AND
DOSE-DEPENDENT RESPONSES -,
Dioxin 2007(Sep2-7, 2007) Sep.4, 2007,
Tokyo Oral

菅野 純、相崎健一、中津則之、北嶋 聡、
児玉幸夫、小川幸男、Percellome
Toxicogenomics for the Development of
Mechanism-based Predictive Toxicology 第
66回日本癌学会総会、シンポジウム「がん
創薬におけるイノベーション」2007年10月
3日、横浜、口演

Jun Kanno, Percellome Toxicogenomics
Project for Predictive Toxicology, 8th

International ISSX meeting (Oct.9-12, 2007)
Oct 9 short course speaker, Sendai

種村 健太郎、五十嵐 勝秀、北嶋 聡、菅
野 純、エストロゲン受容体(α 型)非翻訳領
域遺伝子改変マウスの脳構造および脳高次
機能解析 第100回日本繁殖生物学会大会、
2007年10月19-22日、東京

五十嵐勝秀、北嶋聡、種村健太郎、菅野純、
エストロゲン受容体 α 型の妊娠維持への関
与 第100回日本繁殖生物学会大会、2007
年10月19-22日、東京

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Katsuhide
Igarashi, Noriyuki Nakatsu, Satoshi Kitajima,
Yukio Kodama, Yukio Ogawa.,
PERCELLOME TOXICOGENOMICS
PROJECT FOR MECHANISM BASED
PREDICTIVE TOXICOLOGY: AN
APPROACH TO MINIMISING TOXICITY
IN DRUG DEVELOPMENT. The 1st Asia
Pacific Regional Meeting (APISSX) of
International Society for the Study of
Xenobiotics (ISSX), December 3-6, 2007,
invited speaker

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

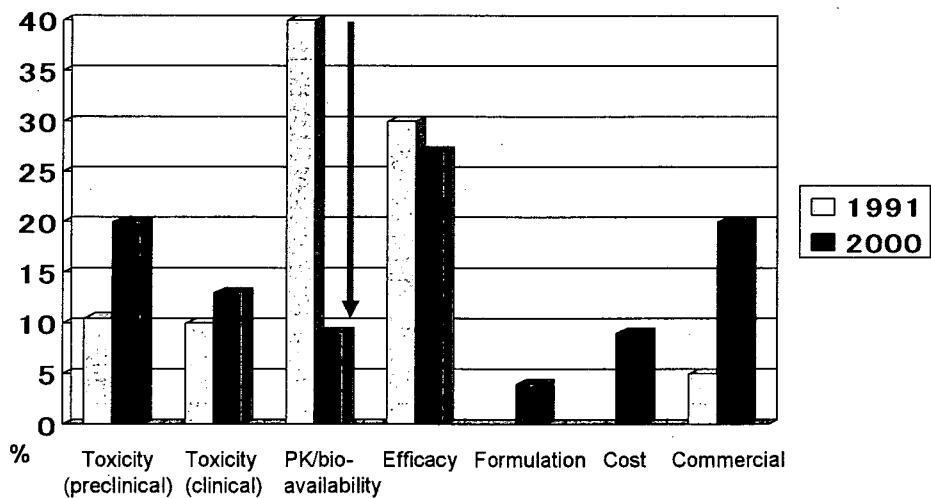
トキシゲノミクスから 見えてくること

同志社女子大学薬学部病態生理学
(独) 医薬基盤研究所
トキシゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト

漆谷徹郎

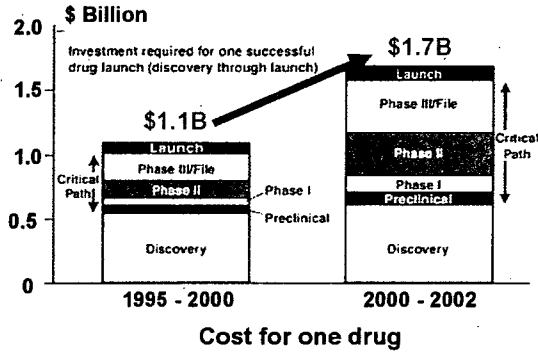
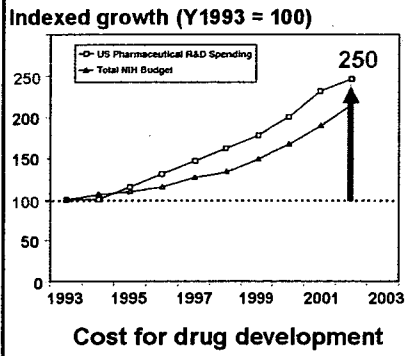
薬学会関東支部シンポジウム 2007. 11. 10

Reasons for attrition: 1991 vs 2000



Nature Rev. Drug Discov. 3, 711-715 (2004)

Vast increase in the cost of drug development and "Critical Path"



(FDA 2003)

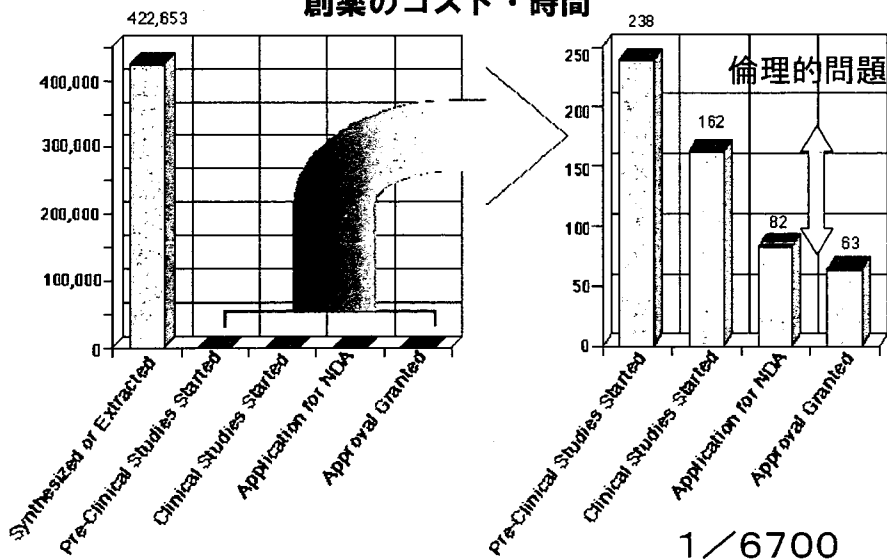
Advances in "omics technology" for seeds finding



Least advances in "drug development procedure"

製薬協調査 (1996~2000)

創薬のコスト・時間



どうすればよいのか???

受容体理論・用量反応関係を無視しては科学的予測は不可能



旧来の毒性学的フェノタイプに依存した方法論では理論的に予測不能



旧来のフェノタイプに依存しない定量的な指標から判断するしかない



毒性発現には多数の未知の要素が絡み合っているので、網羅的解析が必須



Genomics, proteomics, metabolomics.....

~ omicsの世界:

Transcriptomics

欧米のトレンド

2つの方向性

1. ベンチャーによる毒性予測ビジネス
(巨大製薬会社による自前DB)
2. 官・民・学による巨大データベースネットワークの完成

* 規制当局によるチップデータの採用

Use of toxicogenomics data for regulatory science



Guest Editors Regulatory Acceptance of Toxicogenomics Data



CDER Home | About CDER | Drug Information | Regulatory Guidance | CDER Calendar | Scientific Activities | CDER Archives

Search

Genomics at FDA

- Genomics Overview
- What's New
- Genomic Data Submission
 - Decision Tree for Genomic Data Submission
 - Voluntary Genomic Data Submission (VGDS)
 - QIR3 Reference Guide
- Interdisciplinary Pharmacogenomics Review Group (IPRG)
- Regulatory Information
- Frequently Asked Questions
- Background Information on Genomics
 - Pharmacogenomics
 - Ethnopharmacology
 - Drug Development and Drug Interactions
 - Publications by FDA Staff
 - Presentations
 - Upcoming Events
 - Related Links
 - Contact Information

Genomics Overview

Pharmacogenomics allows us to identify sources of an individual's profile of drug response and predict the best possible treatment option for this individual. The use of genomic information, accelerated by the sequencing of the human genome and the advent of new tools and technologies, has opened new possibilities in drug discovery and development. Consequently, regulatory science and regulations need to be set in place appropriately.

FDA recognizes the importance of pharmacogenomics and encourages its use in drug development. This is reflected in the FDA white paper "Signation or Imposition? - Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products," which identifies pharmacogenomics as a key opportunity for the Critical Path.

Early clinical data, through use of toxicogenomics, can be used to identify drug discovery and development processes, to improve methods of drug testing, and to identify strategies for drug development. The ability of public regulatory agencies to accept and evaluate genomic data is a challenge. The challenge is to identify and establish acceptable data sets, to establish a common standard for data sets, and to identify strategies for drug development. The ability of public regulatory agencies to accept and evaluate genomic data is a challenge. The challenge is to identify and establish acceptable data sets, to establish a common standard for data sets, and to identify strategies for drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development. The guidance to general and includes examples of genetic and genomic data sets that are acceptable for use in drug development.

<http://www.fda.gov/CDER/genomics/default.htm>

EHP 112(4), 2004

トキシコゲノミクスプロジェクトの概要(1)

目的: トキシコゲノミクス手法を用い、創薬早期段階で化合物の安全性を予測するシステムを構築する。

方法: 約150の化合物について、大規模データベースを構築する。

Affymetrix GeneChip (肝臓、腎臓)

関連する毒性情報

2002年6月 - 2007年3月 (5年計画)

官民共同プロジェクト

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 (H4-トキシコ-001)

製薬17社共同研究費

トキシコゲノミクスプロジェクトの概要(2)

プロジェクト本拠: 国立医薬品食品衛生研究所(東京・用賀)

平成16年度まで

医薬基盤研究所(大阪・茨木市彩都)

平成17年度より



参加企業

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

プロジェクトの特徴

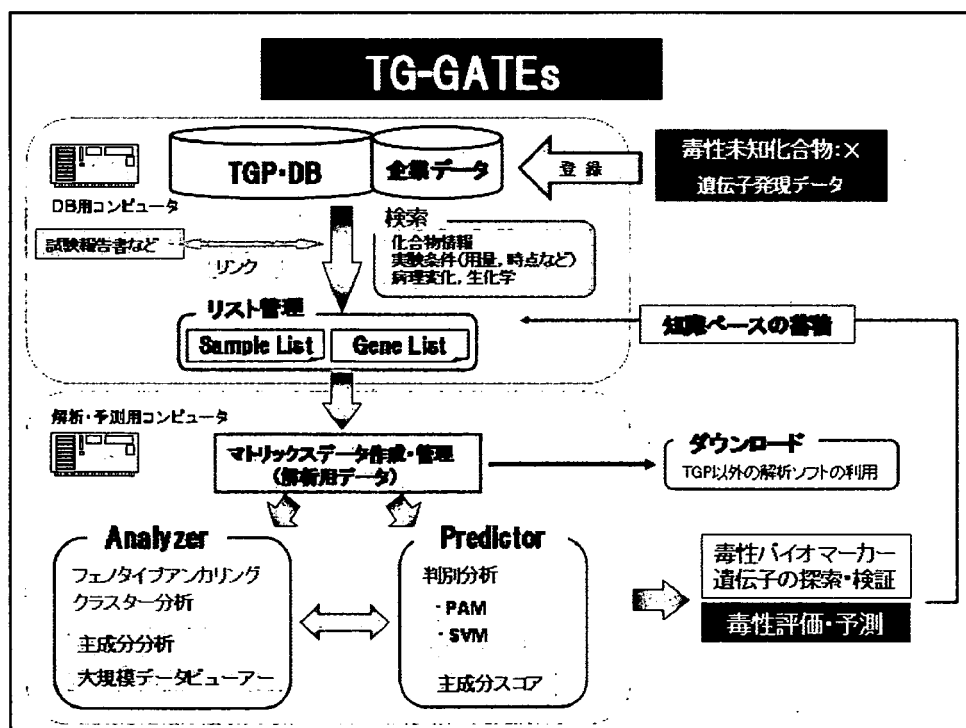
- 1) 定量性に優れたAffymetrix 社GeneChipを採用。DNA量に基づいたSpike RNAを添加して細胞1個あたりのmRNA量を評価する手法も採用
- 2) 全被検化合物 150は標準的医薬品が中心であり、臨床で副作用が明らかとなり開発・市販中止となった薬物や、企業提供の独自化合物を多く含む
- 3) 十分な用量・時間設定のもとに得られた各種毒性学的データのフルセットを、遺伝子発現データとリンクさせ、かつ関連情報と有機的に結びつけ、統合データベースとして構築する
- 4) 種差のブリッジングを考慮している

Genomics-Assisted Toxicity Evaluation System
created by Toxicogenomics Project Japan

TG-GATEs

Database

Predictor



完成したデータベース規模

化合物数：150

動物数：24,000匹

GeneChip数：24,000

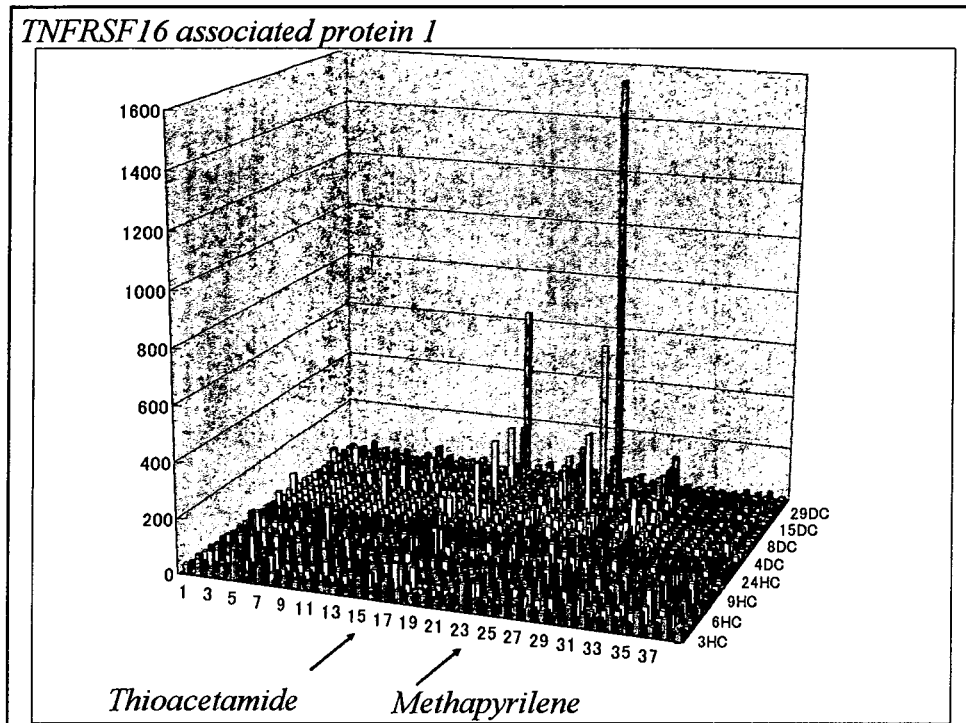
測定遺伝子数：約800,000,000

測定検査値：2,880,000項目

病理組織標本：48,000

解析例

- 1) 多量のデータ蓄積による
サーカディアン遺伝子の抽出
溶媒影響の解析
特異的発現遺伝子の抽出
- 2) 多時点・多用量水準プロトコールの利点
生物統計上の問題点の克服
見逃しの確率の小さいデータベース



解析例

- 1) 多量のデータ蓄積による
 - サーカディアン遺伝子の抽出
 - 溶媒影響の解析
 - 特異的発現遺伝子の抽出

- 2) 多時点・多用量水準プロトコールの利点
 - 生物統計上の問題点の克服
 - 見逃しの確率の小さいデータベース

Omeprazoleによる
遺伝子変化

P<0.05

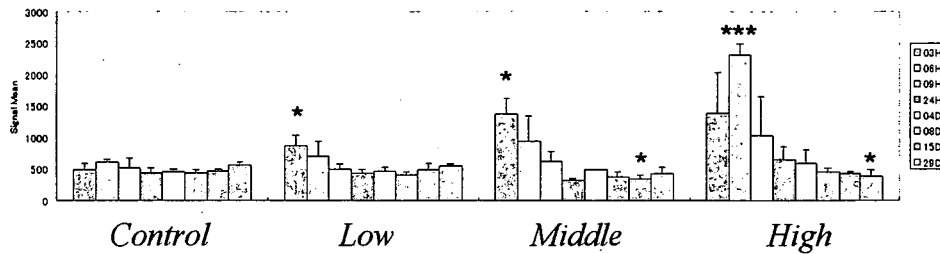
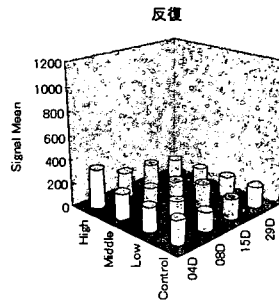
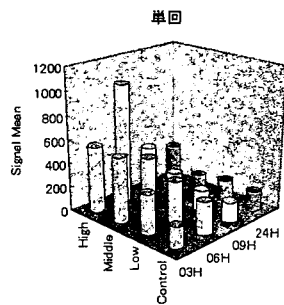
36883
380784

P<0.001

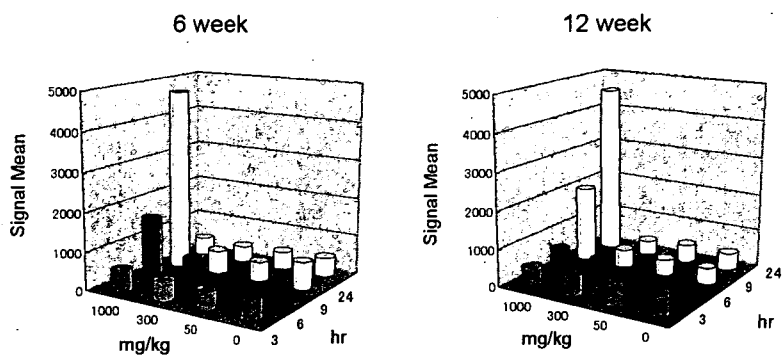
1639
380784

ProbeID	GeneName	3h			6h			9h			24h			3d			7d			14d			28d		
		L	M	H	L	M	H	L	M	H	L	M	H	L	M	H	L	M	H	L	M	H			
1367452.a	SMT3 suppressor of rif two 3 homolog																								
1367453.a	cell division cycle 37 homolog (S. cerevisiae)				*																				
1367454.a	beta prime COP																								
1367455.a	velosin-containing protein																								
1367456.a	ubiquitin-conjugating enzyme E2D 3 (S. cerevisiae)																								
1367457.a	beclin 1 (coiled-coil, myosin-like BCL2-interacting protein)			*																					
1367458.a	lysophospholipase II							*																	
1367459.a	ADP-ribosylation factor 1																								
1367460.a	guanosine diphosphate dissociation inhibitor 1																								
1367461.a	coatamer protein complex, subunit beta					*			*																
1367462.a	calpain small subunit 1																								
1367463.a	B-cell receptor-associated protein 37																								
1367464.a	siah binding protein 1 FBP interacting protein	*	*	*																					
1367465.a	defender against cell death 1																								
1367466.a	Similar to splicing factor Prp8								*																
1367467.a	Similar to nitrogen fixation cluster-like protein																								
1367468.a	Similar to leucine-rich-domain interacting protein																								
1367469.a	eukaryotic translation initiation factor 4E																								
1367470.a	Similar to SAR1a gene homolog								*																
1367471.a	Similar to Polr2a protein			*					*																
1367472.a	NA																								
1367473.a	Similar to Mitochondrial import receptor subunit 1	*	*	*					*																
1367474.a	alpha3-fucosyltransferase 11				*	*																			
1367475.a	cell division cycle 42 homolog S. cerevisiae								*	*															
1367476.a	Similar to signal recognition particle 1	*	*	*				*	*	*															
1367477.a	Similar to Mylk protein								*																
1367478.a	Similar to serine protease OMI																								
1367479.a	Transcribed sequence with strong similarity to RIKEN cDNA 3110001D03																								
1367480.a	NA																								
1367481.a	Similar to vacuolar protein sorting 28					*																			
1367482.a	Transcribed sequence with strong similarity to RIKEN cDNA 3110001D03																								
1367483.a	Similar to RIKEN cDNA 3110001D03																								
1367484.a	Transcribed sequence with strong similarity to RIKEN cDNA 3110001D03					*	*	*																	
1367485.a	Similar to transcription elongation factor 2				*				*																
1367486.a	Similar to zinc finger protein 289															*	*	*							

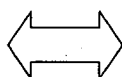
ヘムオキシゲナーゼ1



Effects of Acetaminophen on the expression of Heme oxygenase-1

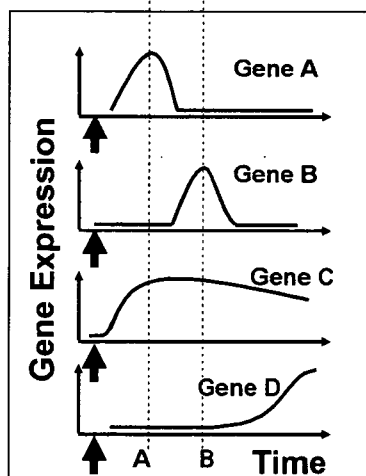


Hmox-1は細胞ストレスのバイオマーカーとなるか？



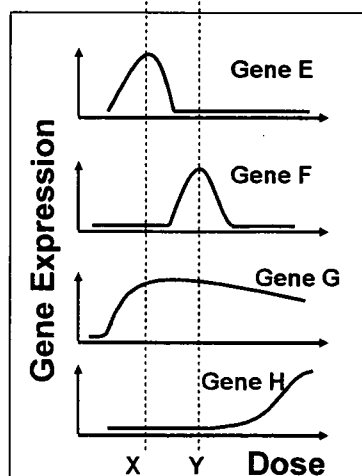
ピークとなる時間が異なる閾値が存在する

Time-dependent expression profile



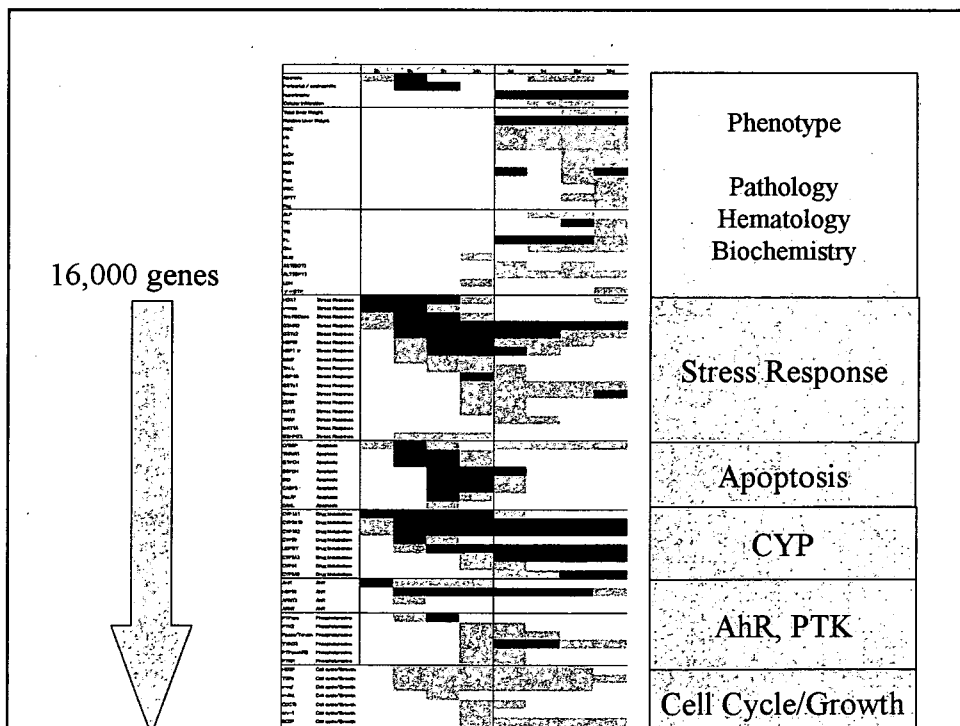
Drug

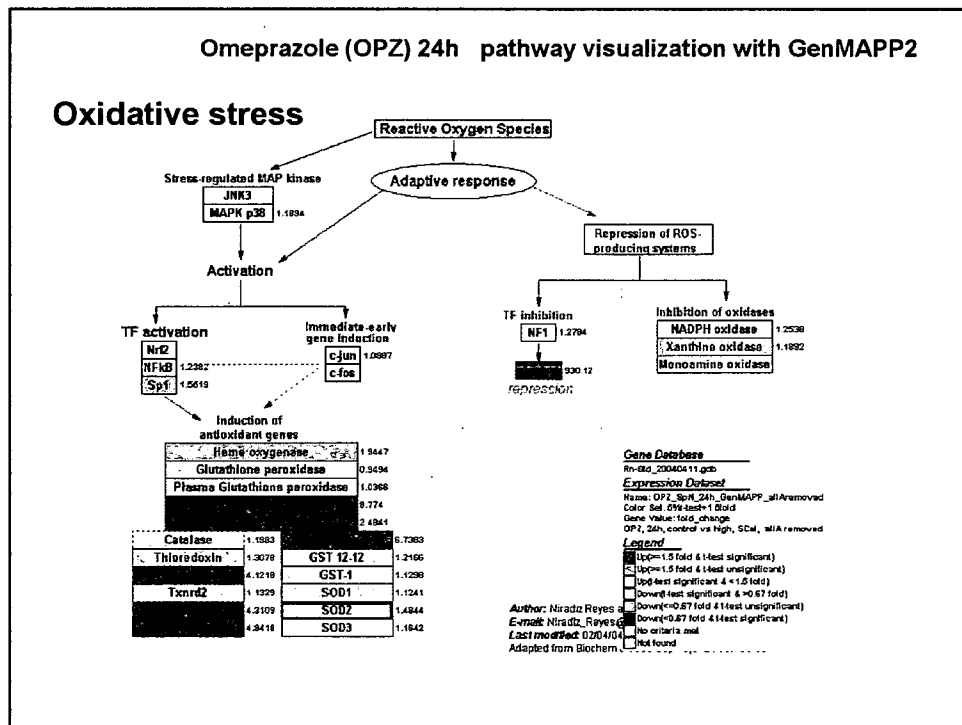
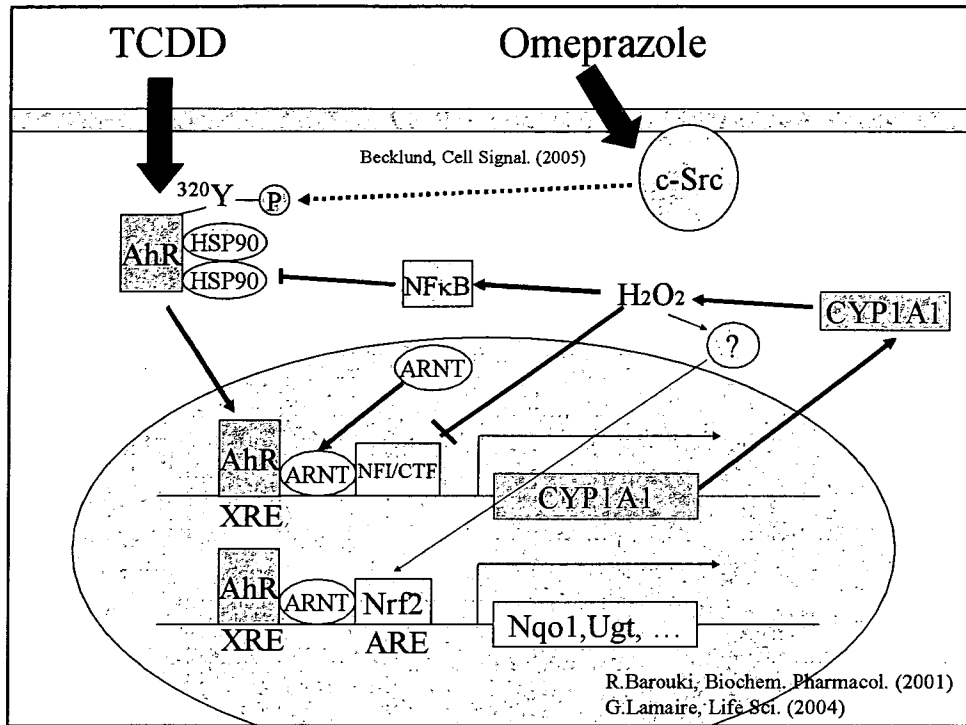
Drug-dependent expression profile

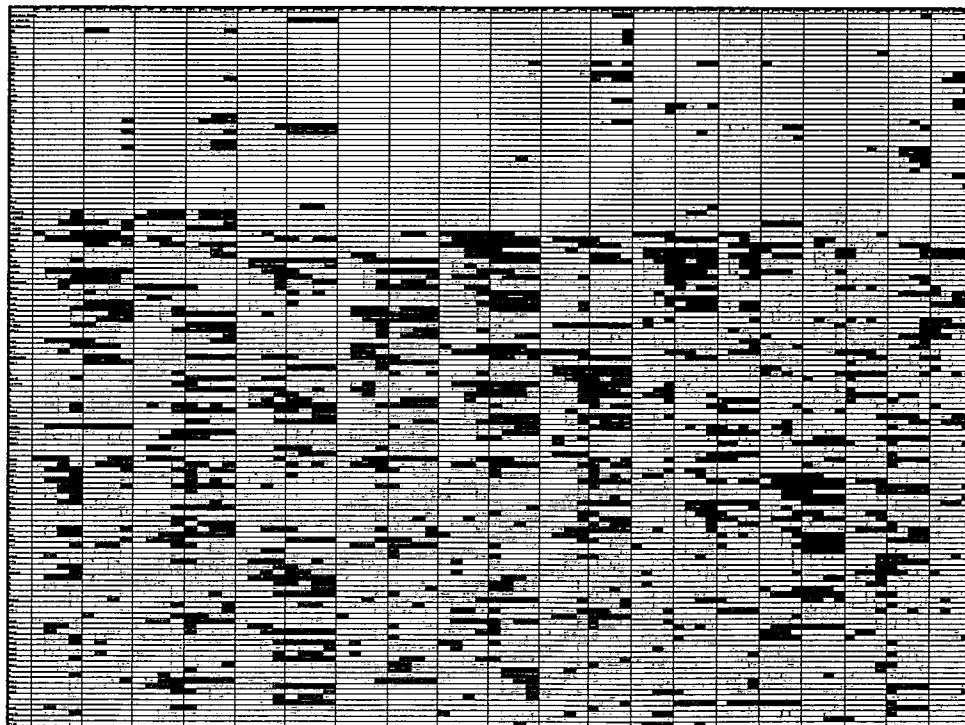
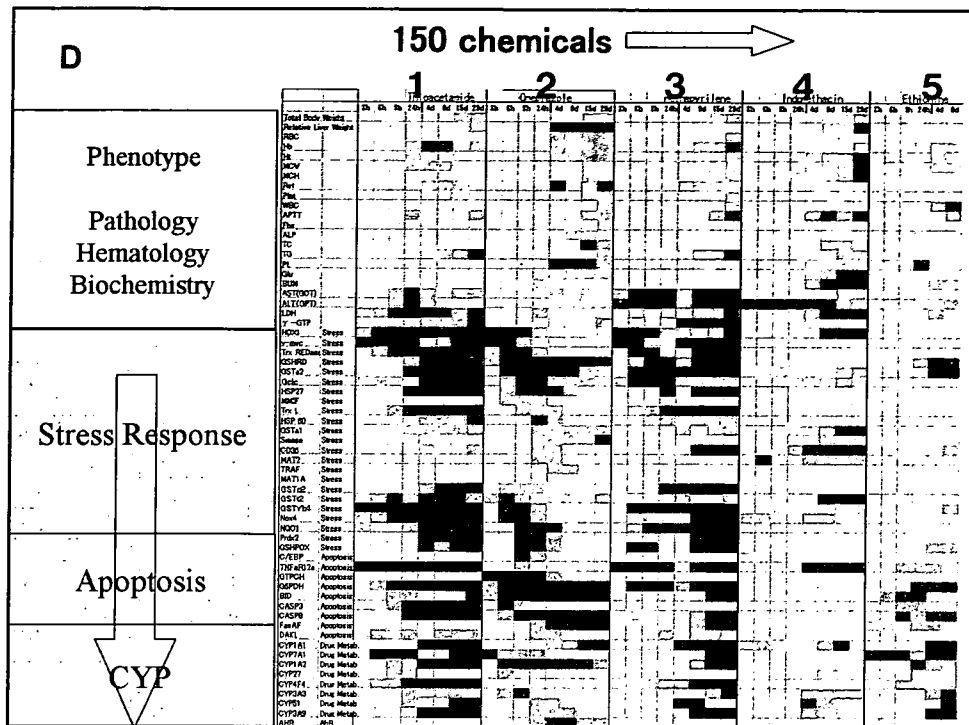


網羅的遺伝子解析の問題点

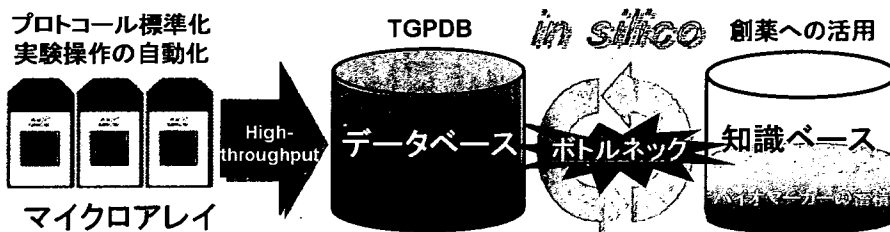
- 例数に比べデータ数が膨大である
→統計手法の適用が困難
有効な“フィルタリング”の必要性
- 用量・時間依存性のデータ解析法が未熟
- 結果の意味づけが困難である
毒性メカニズムの解析が必須







トキシコゲノミクス研究のボトルネック



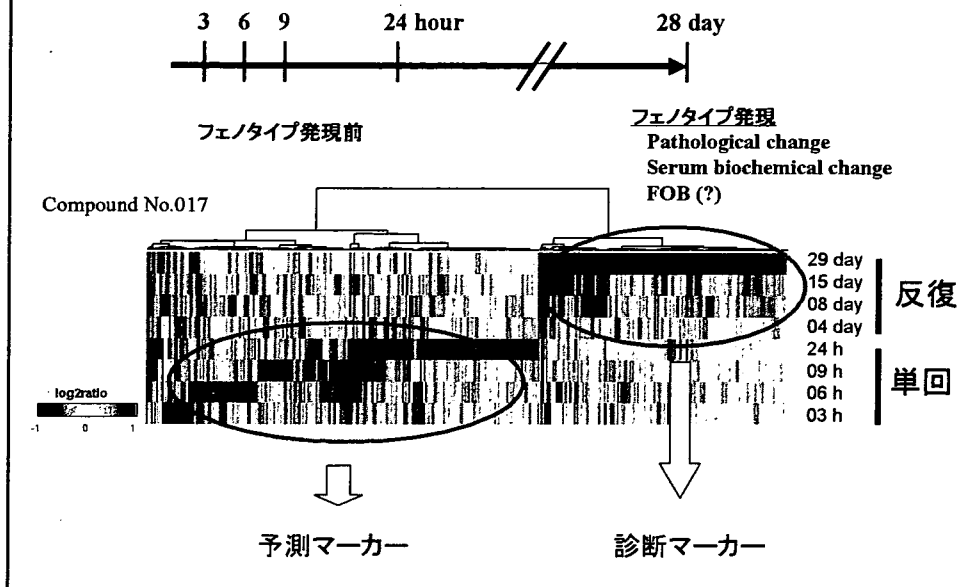
マイクロアレイ技術の発達により、網羅的遺伝子発現データ取得のスループットは劇的に向上した一方で、データベースからの知識探索・活用は自動化できないためにスループットは低い

TGP大規模DBの資源を有効活用するため、
知識(バイオマーカー遺伝子セット)を効率的に探索・活用
するためのツール作成

解析・予測のストラテジー

- フェノタイプアンカーリング
病理変化の標準化(?)
 - バイオマーカー遺伝子リストの取得
一覧性のよいスコア化方式の開発
 - 判別分析
PAM, SVM: 予測結果の定量的表示
 - 主成分分析
予測結果の定量的表示
- 毒性メカニズムに基づいた予測

時間依存的な遺伝子発現変化とその使い分け



Toxicogenomics Database - Microsoft Internet Explorer

http://192.168.10.134:8080/top/servelet/ToxicogenomicsDB

Toxicogenomics System Database and Analysis

Selected Sample

acetaminophen	Detail
fenitazid	Detail
carbon tetrachloride	Detail
phenobarbital	Detail
valproic acid	Detail
clofibrate	Detail
methotrexate	Detail
ziflopiacin	Detail
alpha-naphthylthiohydrazine	Detail
allylalkohol	Detail
phenylbutazone	Detail
omazoxazole	Detail
ethionazine	Detail
oxyzin	Detail
indomethacin	Detail
chlorpromazine	Detail
thioracetamide	Detail
carbamazepine	Detail
diclofenac	Detail
nitrofurantoin	Detail
benzothiazone	Detail
hexachlorobenzene	Detail
diazepam	Detail
cycloheximide	Detail

In vivo

COM_NAME/MARKER_NAME	Rep 01V	Rep 02V	Rep 03V	Rep 04V	Rep 05V	Rep 06V	Rep 07V	Rep 08V	Rep 09V	Rep 10V	Rep 11V	Rep 12V	Rep 13V	Rep 14V	Rep 15V
APAP	0.2	1.1	1.7	3.1	1.1	2.3				2.6	4.2	4.2	2.2		
APAP	mat_magenetic	1.1	0.4	2.2			2.2	4.2		1.1	0.9	3.4		2.4	
APAP	APAP-v2-GH-v24	4.2	0.2	0.1			4.8	1.0	1.5	7.3	1.7	2.6		9.3	6.7
APAP	TAA Single Peak	2.7	0.3	3.6			1.8	1.5	1.6	0.7	1.6	3.2	5.9	5.7	4.3
APAP	BB Repeat TC1	0.1	0.2	2.9	2.1		0.9	6.3	0.1	0.1	2.2	1.4	7.5	4.7	8.3
APAP	amara050782	2.2	0.7				1.1	2.3	1.9	4.9	1.7	4.5		1.1	5.8
APAP	Methyltransferase	0.9	4.6	0.2			2.1	0.2	1.1	7.4	0.5	2.1	3.1	7.5	4.6
APAP	PHO CSH 113yrb			0.5			2.8	1.5	1.8	0.3	1.4				6.9
APAP	TAAMPp011aaw0e	0.8	0.1	1.1	2.1		1.8	0.5	1.6	0.3	0.6	0.7	1.0	1.6	2.0
APAP	shhaku_CYP	0.2	1.3	1.9	2.5		0.8	0.3			1.6	4.2	5.4	0.1	2.5
APAP	Toranzo-Ona+Yama	0.2	0.5	2.6	1.1	0.6			1.5	2.7	6.5	0.0	1.7	4.5	4.1
APAP	肝障害マーカー-KD-C評価	4.7		0.5			1.1	5.9	3.4	8.5	5.3				
APAP	PHOグルコース6P転写マーカー	5.4		7.1			0.5	1.2	0.7	0.9	2.0				9.3
APAP	EffectSize-Down	1.5	0.2	0.3	0.3	0.7	0.5	0.4	1.1	1.5	2.2	1.5		1.8	1.4
APAP	APAP_CCH_P&B	2.6	1.2	0.0			2.8	0.3	0.5	2.1	1.6	1.5	0.1	0.5	2.7

In vitro

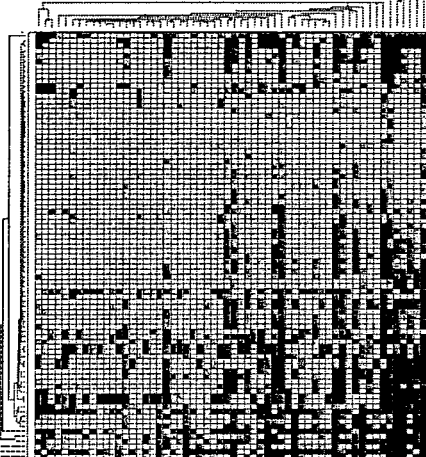
COM_NAME/MARKER_ID	Rep 01V	Rep 02V	Rep 03V	Rep 04V	Rep 05V	Rep 06V
APAP	0.1					1.9
APAP	1.3	0.8	-2.1	2.7	0.7	
APAP	2.3				0.5	
APAP	4.8				4.8	
APAP	0.7				2.1	0.2
APAP	0.1				1.6	10.4
APAP	2.7				4.6	

バイオマーカーを活用した化合物評価

スコア低 ← → スコア高

横軸: 化合物

縦軸: バイオマーカー

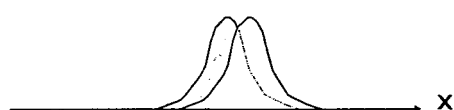
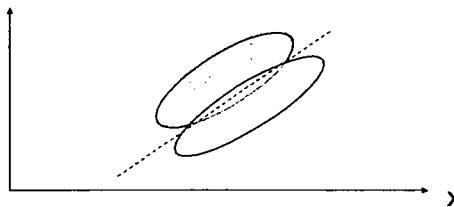
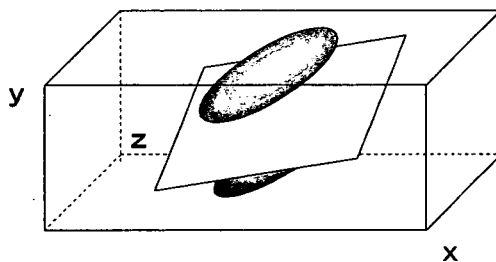
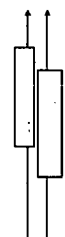


バイオマーカーレベルのプロファイル
類似性評価: 「Knowledge array」

Sig Gene Hypertrophy & ALT modified Single Post-Nega
uehara_033AM_H_welch0.05_fold1.5_down_15and29D
mat_lipidosis_down_050427
TAA Single Pearson minus less 0.6

PPAR α Specific Gene
Sig Gene Cellular Infiltration & ALT 24H Post-Nega
uehara_033AM_H_welch0.05_fold1.5_up_15Dand29D
BBR Repeat TG inverse association 163 gene
酸化ストレス
Sig 90gene AND APAP 8H, 24H same change
vitro_cluster1
Sig gene necrosis & ALT UP modified Single
ONO PPARa single24h
Hamp
Tamura PPARalpha SigGene

多変量 解析の イメージ



n次元



3次元



2次元



1次元