

# TGP2共同研究体制

- リーダー : 大野泰雄(国衛研)  
サブリーダー : 漆谷徹郎(同志社女子大・薬)
- 中核組織
  - 独立行政法人 医薬基盤研究所
  - 国立医薬品食品衛生研究所
- 製薬企業13社
  - アステラス、エーザイ、大塚、小野、キッセイ、三和化学、塩野義、住友化学、第一三共、大日本住友、武田、田辺三菱、中外

## TG-GATEs (データベース情報)

### ➤ 化合物 150 (2006年度)

- 医薬品: 118
- 開発中止化合物: 17
- 肝・腎毒性誘発既知化合物: 15

### ➤ 対象臓器

- 肝臓・腎臓

### ➤ 毒性試験

#### <in vivo試験>

- ラット
- 投与期間: 単回、28日間反復
- 用量: 4
- 時点: 4 (単回: 3、6、9、24 hrs)  
(反復: 4、8、15、29 days)

#### <in vitro試験>

- ラット初代肝細胞  
ヒト初代肝細胞
- 用量: 3~4
- 時点: 3~4 (2、8、24 hrs)

### TG-GATEs

### ➤ 遺伝子発現データ

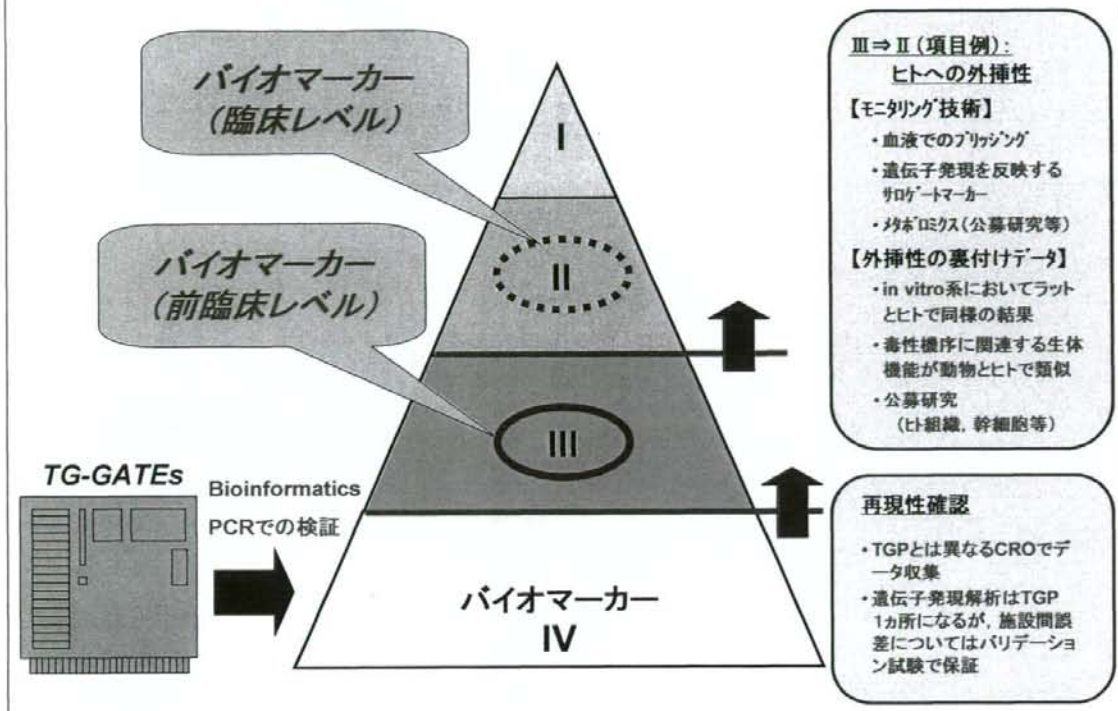
- Affymetrix GeneChip: 約25,000枚
  - ✓ ラット: 約30,000遺伝子
  - ✓ ヒト: 約50,000遺伝子
- ◆ 同一プラットフォーム、厳密な精度管理、同一SOP

### ➤ 毒性学データ

#### <in vivo試験>

- 動物数: 約25,000匹
- データ: 体重  
臓器重量  
血液学検査値  
血液化学検査値  
剖検所見  
病理組織学的所見  
病理画像
- ◆ 統一プロトコール

# バイオマーカー探索の概要



# バイオマーカー探索のためのテーマ

## <病理フェノタイプ>

- 肝細胞壊死
- 再生
- 胆汁うっ滞
  - ・胆汁うっ滞型
  - ・肝原性
- 肝細胞肥大
  - ・酵素誘導
  - ・ペルオキシソーム増生
  - ・ミトコンドリア肥大
- 脂肪化
- 線維化
- Phospholipidosis
- 炎症(細胞浸潤)
- Kupffer活性化
- 色素沈着(溶血性沈着)
- 腫瘍(非遺伝毒性)

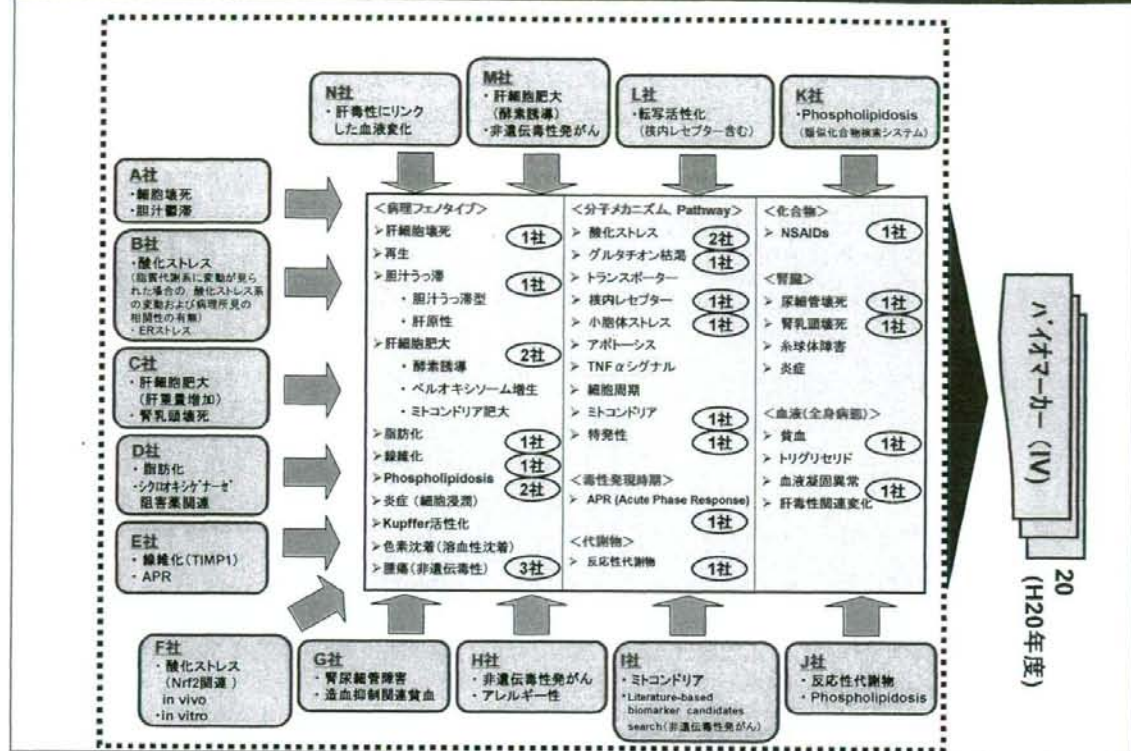
## <分子メカニズム, Pathway>

- 酸化ストレス
  - グルタチオン枯渇
  - トランスポーター
  - 核内レセプター
  - 小胞体ストレス
  - アポトーシス
  - TNF $\alpha$ シグナル
  - 細胞周期
  - 特発性
- <毒性発現時期>
- APR (Acute Phase Response)
- <代謝物>
- 反応性代謝物

## <腎臓>

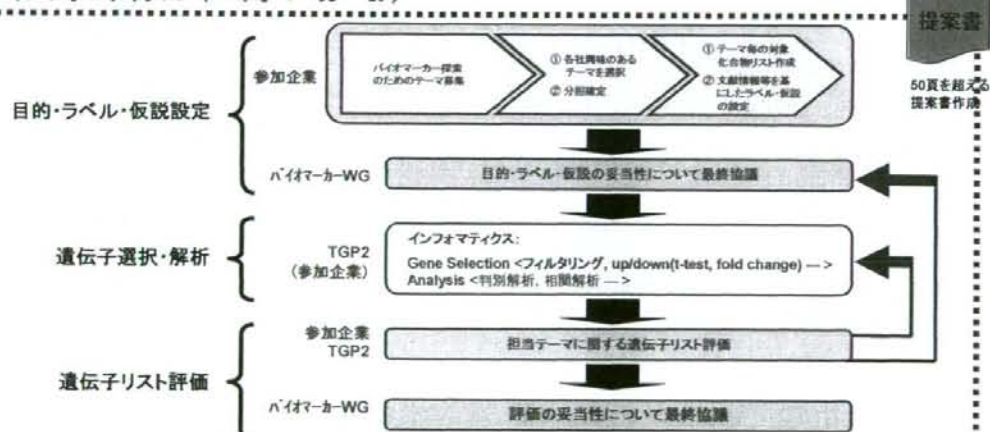
- 尿細管壊死
  - 腎乳頭壊死
  - 糸球体障害
  - 炎症
- <血液(全身病態)>
- 貧血
  - トリグリセリド
  - 血液凝固異常
  - 肝毒性関連変化

# H20年度研究計画



## バイオマーカー探索における共同研究内容

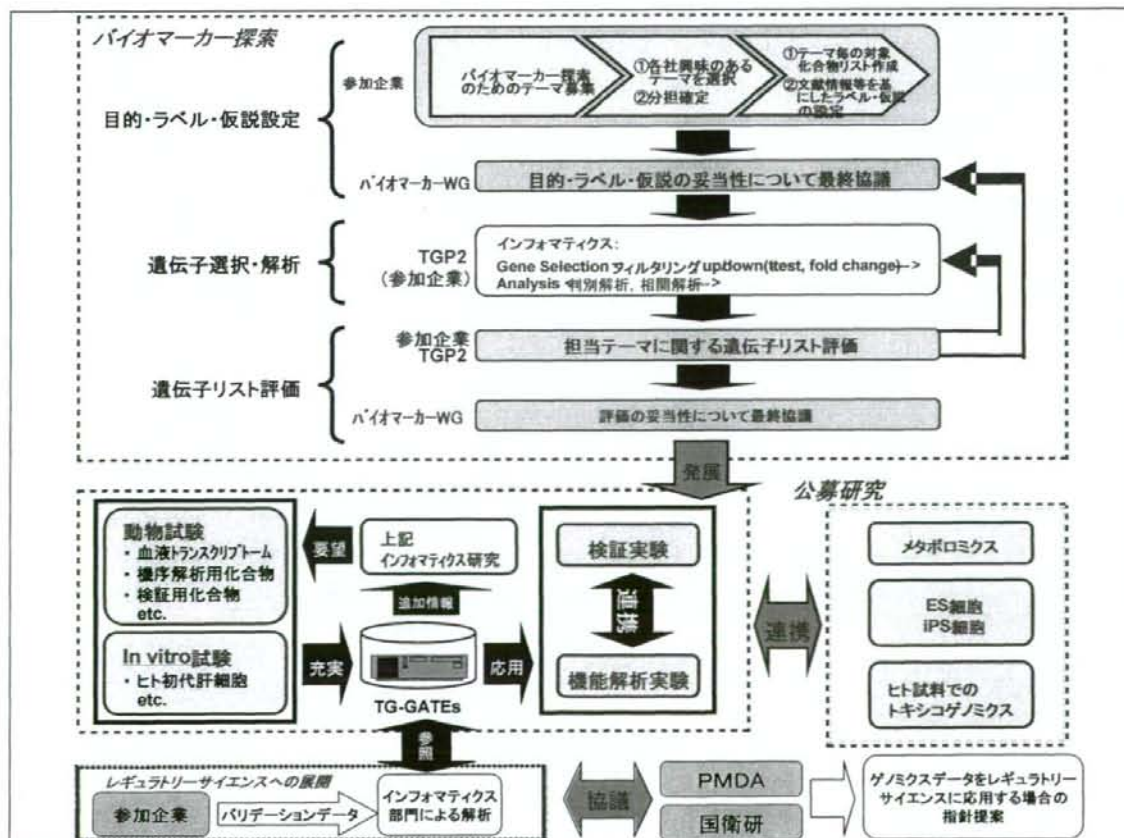
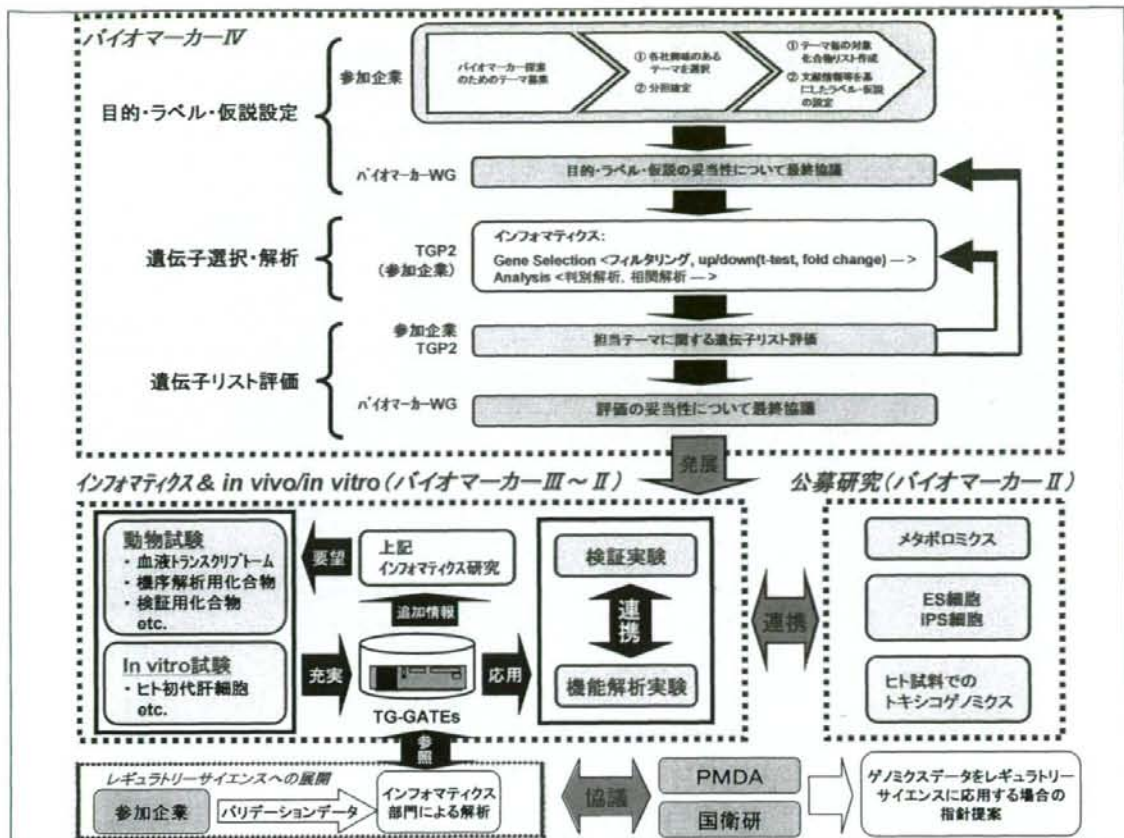
### インフォマティクス (バイオマーカー IV)



### インフォマティクス & in vivo/in vitro (バイオマーカー III ~ II)

### 公募研究 (バイオマーカー II)

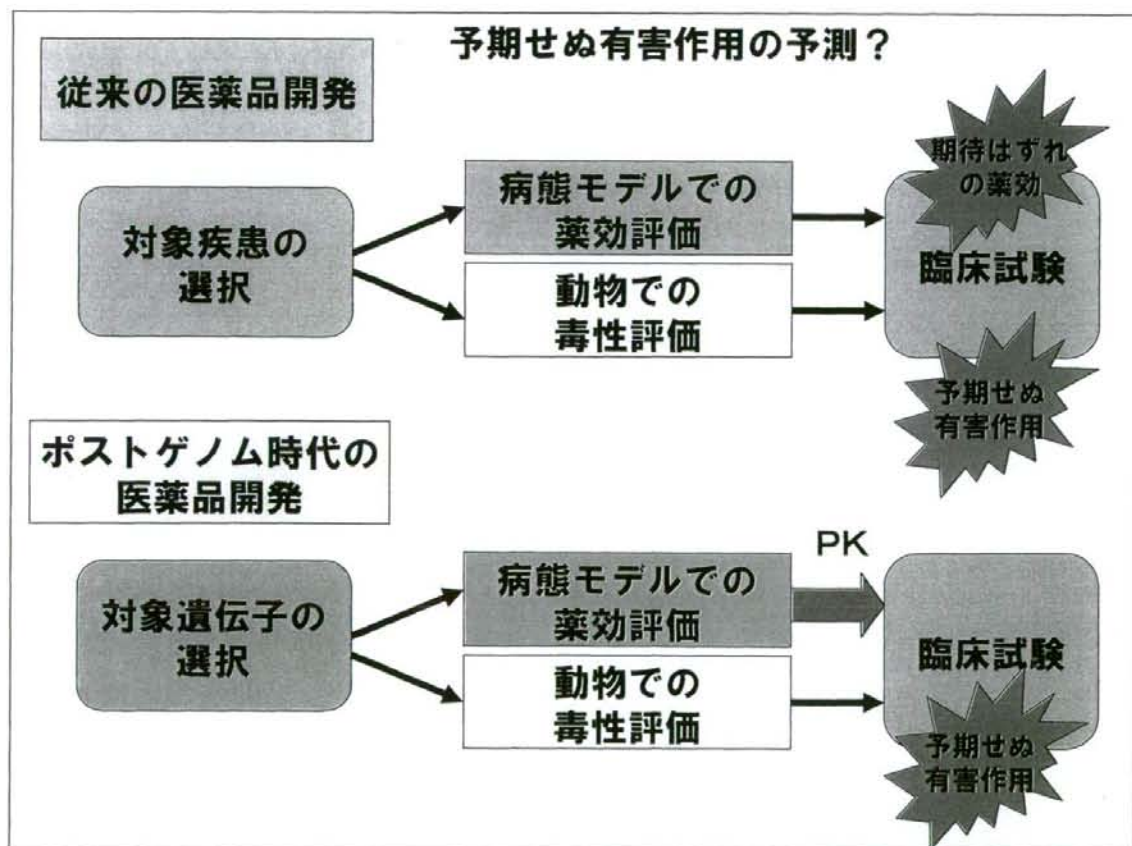




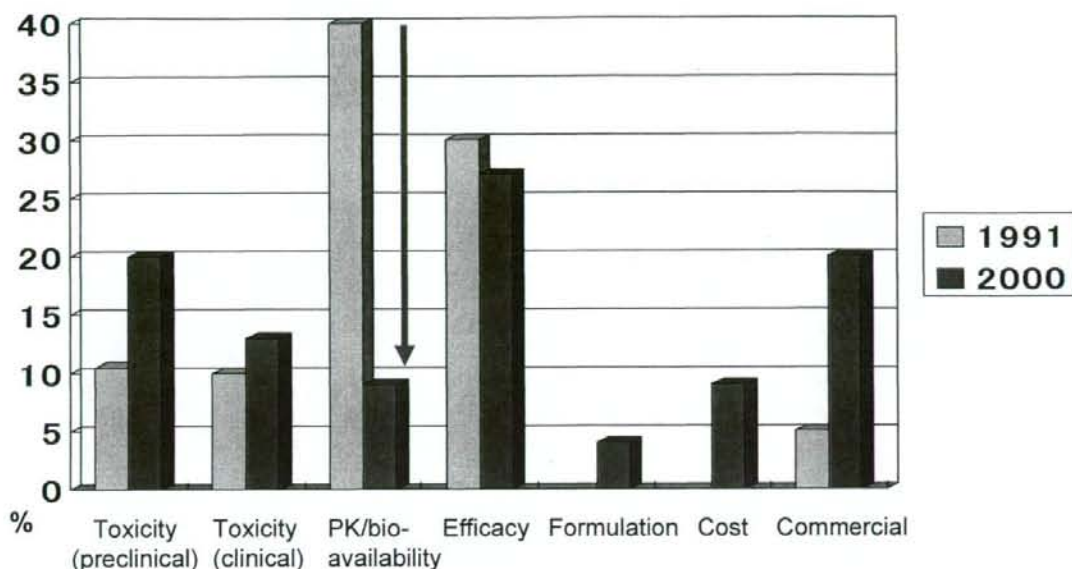
# トキシコゲノミクスプロジェクトデータベース (TG-GATEs) を用いた 肝毒性の予測

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

漆谷徹郎

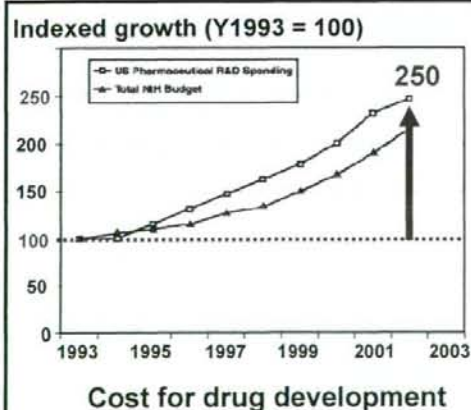


## Reasons for attrition: 1991 vs 2000

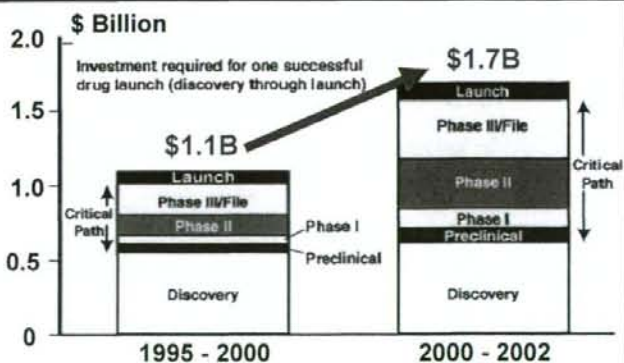


Nature Rev. Drug Discov. 3, 711-715 (2004)

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



Cost for drug development



Cost for one drug

(FDA 2003)

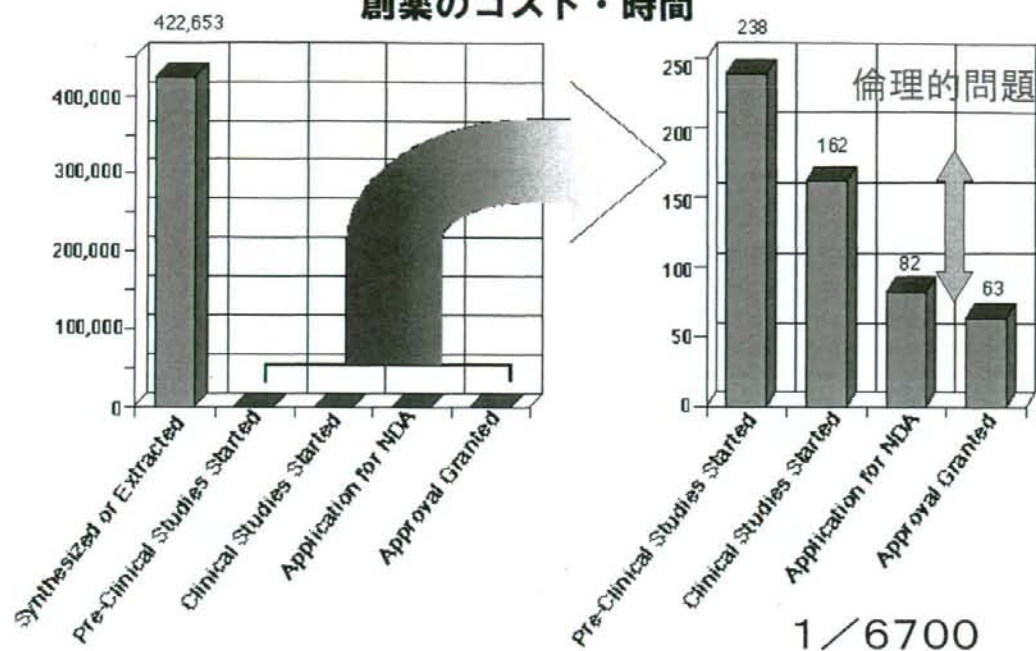
Advances in "omics technology" for seeds finding



Least advances in "drug development procedure"

## 製薬協調査(1996~2000)

### 創業のコスト・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

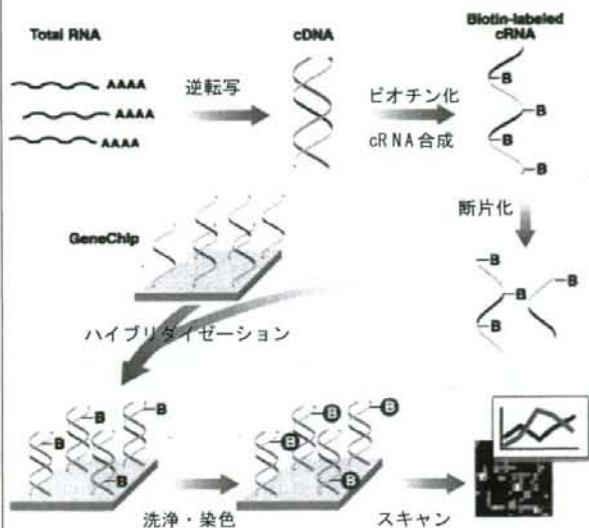
毒性発現には多数の未知の要素が絡み合っているので、網羅的解析が必須

Genomics, proteomics, metabolomics.....

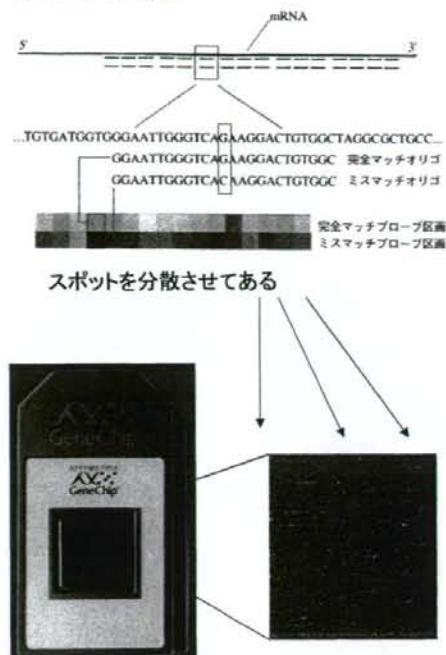
~ omicsの世界:

Transcriptomics

## Affymetrix社GeneChipの原理



## 特異性の保証



# 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 Editorial

## Regulatory Acceptance of Toxicogenomics Data

Early identification of toxicologic side effects of a drug candidate is critical to an efficient drug discovery and development process. Toxicogenomics, the marriage of genomics and toxicology, combined with traditional toxicologic end point evaluation combined with increasingly powerful *in silico* modeling approaches, promises to accelerate this process. The advent of parallel experimental platforms, for example, DNA microarrays, has resulted in so great amounts of complex biologic responses to drugs. The challenge is to analyze and correctly interpret these large data sets. Currently, no common standards exist for such data even though attempts are being made to standardize and standardize the presentation of the information. These efforts include ArrayExpress, information for microarray data (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>), Minimum Information About a Microarray Experiment (<http://www.mged.org/Workshop/MIME/mime.html>), and Microarray Gene Expression (MAGE) markup language ([http://www.mged.org/technology/documents/mml/functional/genexp-expr.html](http://www.mged.org/ftp://www.mged.org/technology/documents/mml/functional/genexp-expr.html)).

The creation of vast amounts of genomics and toxicogenomics data has spurred the development of novel systems to handle this type of information. Ultimately, the success of a toxicogenomics approach in drug development depends on our ability to integrate the data in relation to existing information (e.g., screening of a drug-induced gene expression fingerprint against a database containing drug-related gene expression toxicity profiles). It is critical that cross-disciplinary information (chemistry, biochemistry, genomics, clinical) be integrated into the same data warehouse. Incorporating toxicogenomics data into this approach, which is often referred to as systems biology, will help us understand in much more depth how cells maintain homeostasis and how organisms respond to drug exposure at the molecular level.

The mission of the U.S. Food and Drug Administration (FDA) since that the agency "... is responsible for advancing the public health by helping to speed innovations that make medicines and foods more effective, safer, and more affordable..." (FDA 2004). Former agency commissioner Mark McClellan stated that "the FDA priority is facilitating the use of pharmacogenetics-driven treatments" (Caldwell and Lohs 2004). The FDA has recently issued a draft, "Guidance for Industry: Pharmacogenomics Data Submissions" (FDA 2005), and has held workshops to discuss issues related to pharmacogenomics data submissions (Caldwell and Lohs 2004, 2005; Lofgren et al. 2004; Basore et al. 2004; Trappach et al. 2004). The guidance is being revised on the basis of public comments, and a final guidance should be issued later this year. Major principles found in this guidance apply to toxicogenomics studies. In particular, the identification, evaluation, and validation of biomarkers are critical components of every pharmacogenomics, as well as toxicogenomics, study of cases in regulatory decision making.



The guidance in general and includes examples of genetic and genomic biomarkers (e.g., CYP2D6 (cytochrome P450 2D6) mutation versus an increase in HBE2 human epithelial growth factor receptor 2) expression can be viewed in genetic and genomic biomarkers, respectively. However, it is anticipated that future data submissions will contain more complex gene expression profiles and large-scale single nucleotide polymorphism maps (e.g., from whole genome scans), which will present new challenges to define the analytical and clinical validity of such new and highly complex biomarker sets. The guidance represents the FDA's current view on pharmacogenomics and what the agency believes are the scientific grounds for evaluating such information as it relates to voluntary versus required submission of data.

What are the next steps? Regulators have been criticized for the lack of guidance in the new era of genomics-based drug development. In addition to the guidance on pharmacogenomics data submissions (FDA 2005), the FDA is embarking on a new guidance initiative for the co-development of pharmacogenomics-based drugs and biologic products and the development of decision-making decision-making. Recently, the FDA and the Drug Information Association (DIA) sponsored a pharmacogenomics workshop (FDA/DIA 2004). The purpose of the workshop was to identify issues in the development of pharmacogenomics-based combination products. We hope to see the best of pharmacogenomics knowledge grow and expand, and we look forward to the use of this information in the drug discovery and regulatory evaluation processes. We expect that not only the novel scientific but also the newly created regulatory tools such as voluntary submissions of genomic data will provide the means by which genomic-based research can result in advancing public health and drug development.

Felix W. Fruch  
Shuen-Mei Huang  
Lawrence J. Lesko  
Office of Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics  
Center for Drug Evaluation and Research  
U.S. Food and Drug Administration  
Rockville, Maryland  
E-mail: [lsme@fda.hhs.gov](mailto:lsme@fda.hhs.gov)

CDER Home | About CDER | Drug Information | Regulatory Guidance | CDER Calendar | Specific Audiences | CDER Archives

Search

## Genomics at FDA

- Genomics Overview
- What's New
- Genomic Data Submission
  - Decision Tree for Genomic Data Submission
  - Voluntary Genomics Data Submission (VGDS)
  - Quick Reference Guide
- Interdisciplinary Pharmacogenomics Review Group (IPRG)
- Regulatory Information
- Frequently Asked Questions
- Background Information on Genomics
  - Pharmacogenomics
  - Education
- 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 "Stagnation or Innovation? - Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products," which identifies pharmacogenomics as a key opportunity for the Critical Path.

<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

## 実験プロトコール: in vivo

- ・動物

Sprague-Dawley male SPF rats, 6 weeks

これまでの膨大な毒性データの蓄積  
全ゲノム解析が完了する

- ・対象臓器

肝臓、腎臓

- ・検査対象

血液学、血液生化学、病理組織、臓器重量、体重、  
摂餌量、全身状態、剖検時所見

## 実験プロトコール: in vivo

- ・群構成

1群5匹、3匹を GeneChip 解析

- ・用量

0、低用量、中用量、高用量、原則的に経口

- ・単回投与試験

4 時点 (3, 6, 9, 24 時間後剖検)

- ・連続投与試験

4 時点 (3, 7, 14, 28 日間連続投与、翌日剖検)

# 実験プロトコール:in vitro

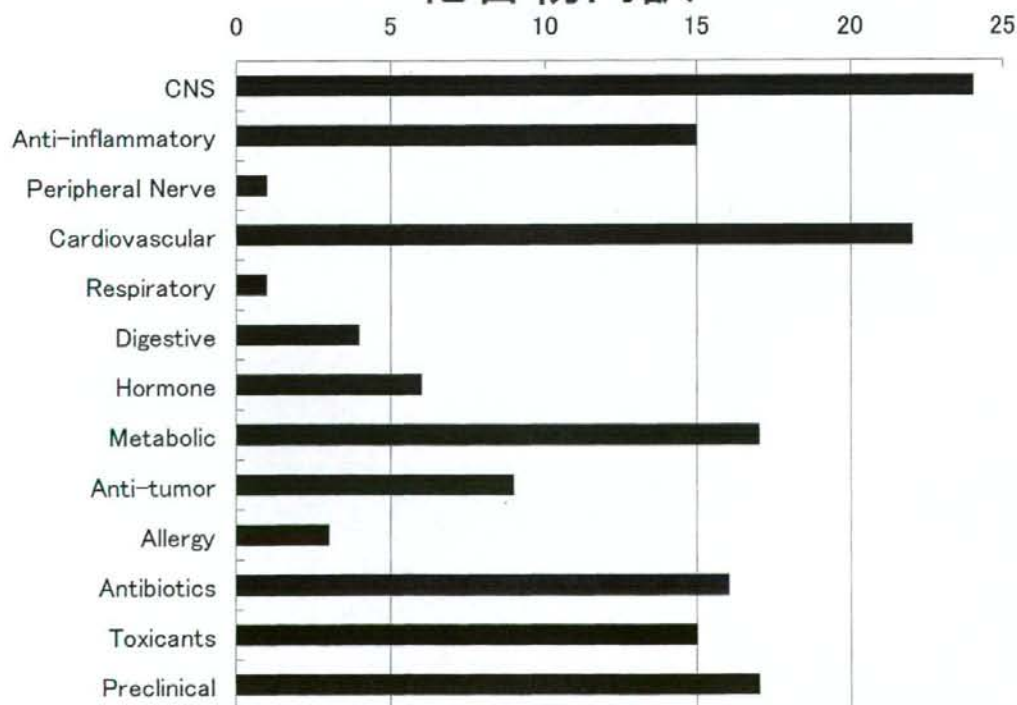
## ラット肝臓一次培養細胞

0、低、中、高濃度; 2, 8, 24 時間処理  
細胞生存率・GeneChip解析

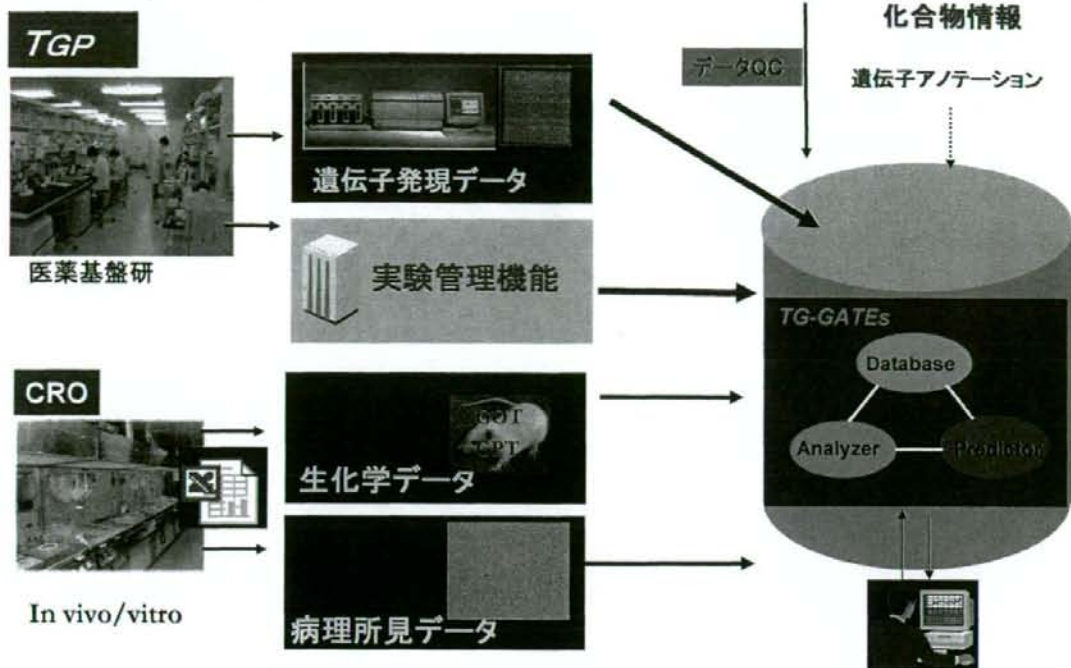
## ヒト肝臓一次培養細胞

0、低、中、高濃度; 2, 8, 24 時間処理  
細胞生存率・GeneChip解析

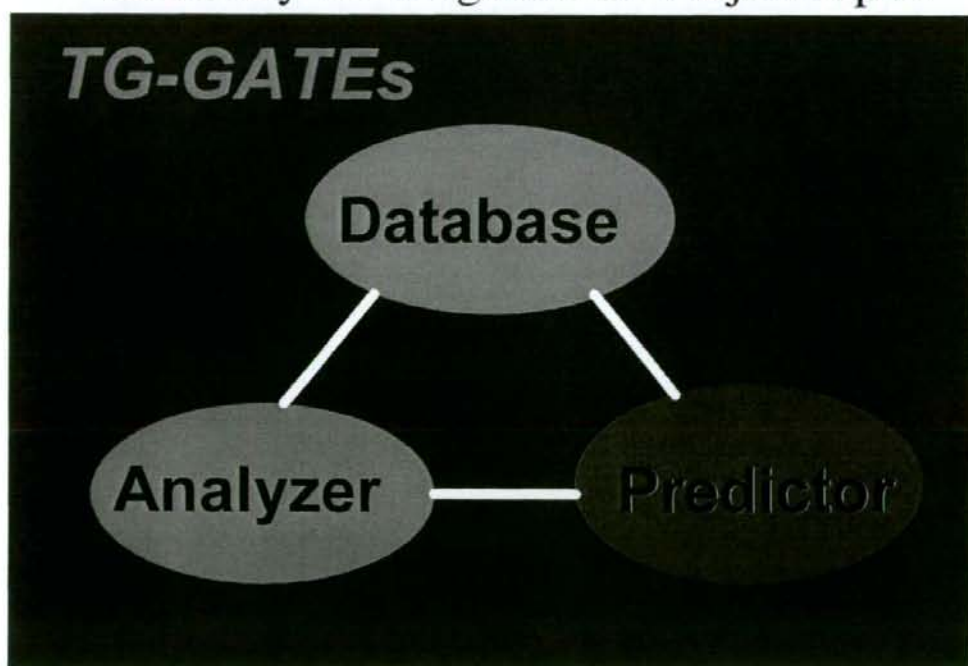
## 化合物内訳



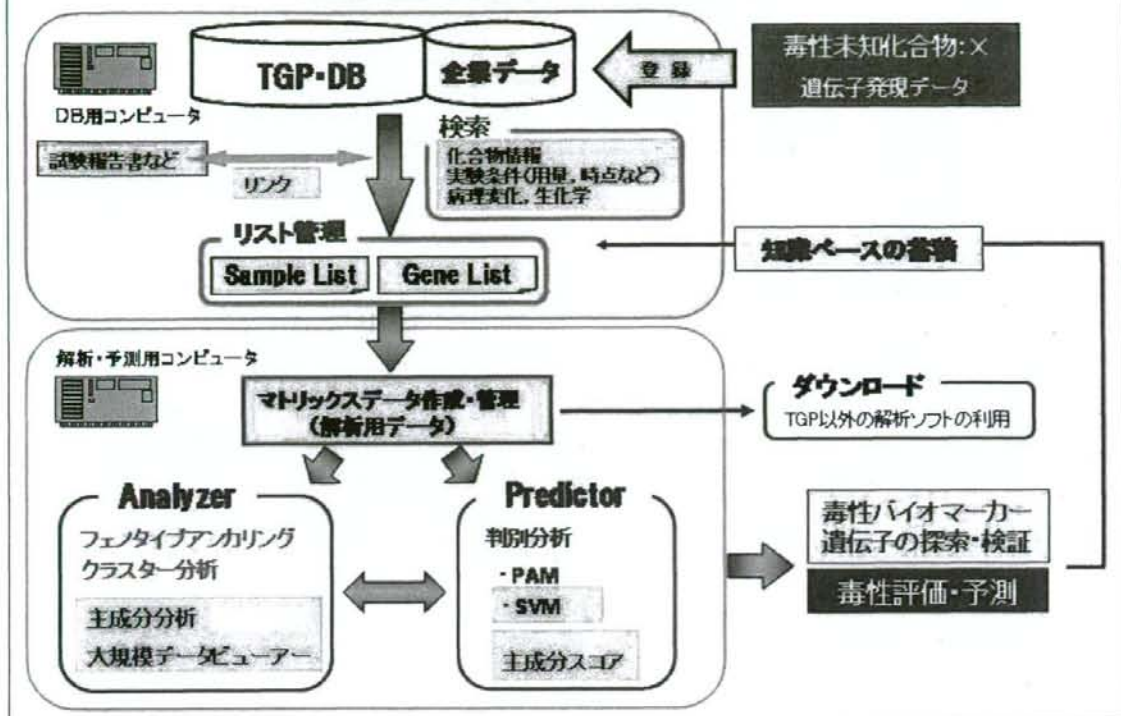
# 運用体制



Genomics-Assisted Toxicity Evaluation System  
created by Toxicogenomics Project Japan



# TG-GATEs



## 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

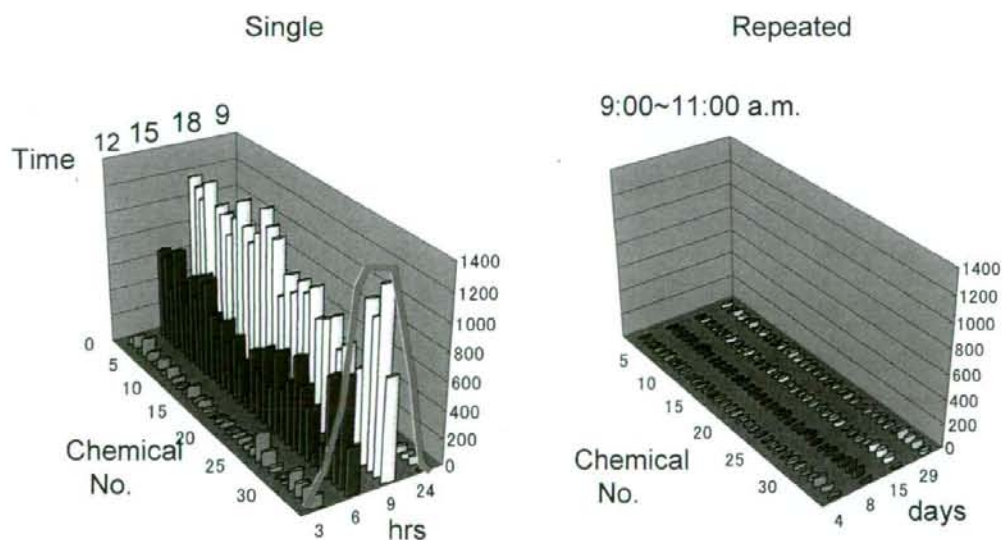
病理組織標本：48,000

# 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

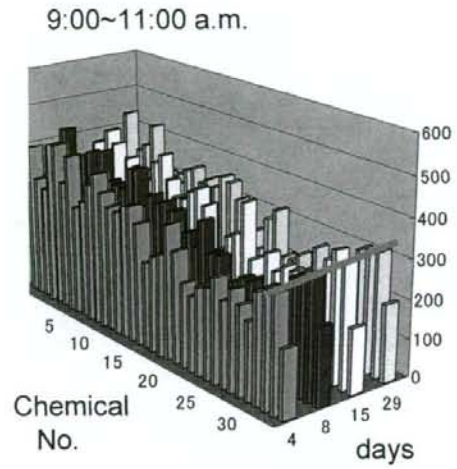
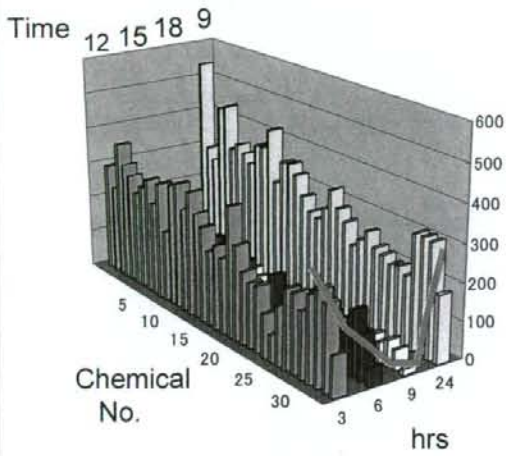
D site albumin promoter binding protein



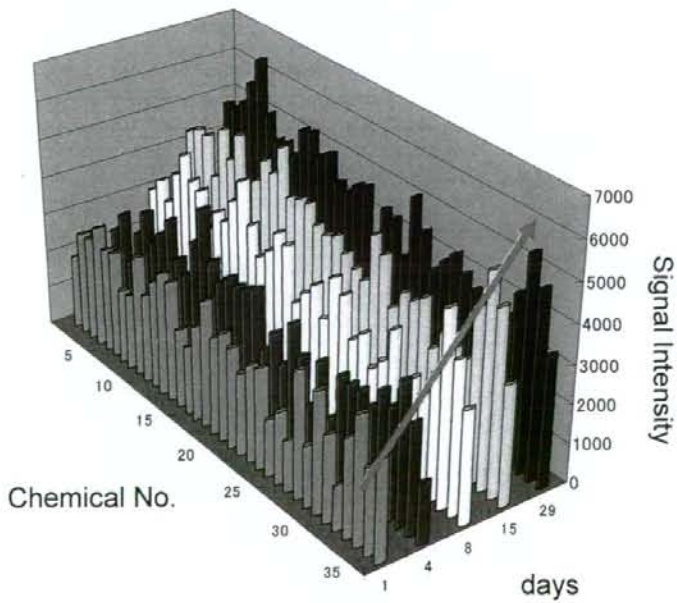
aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like

Single

Repeated

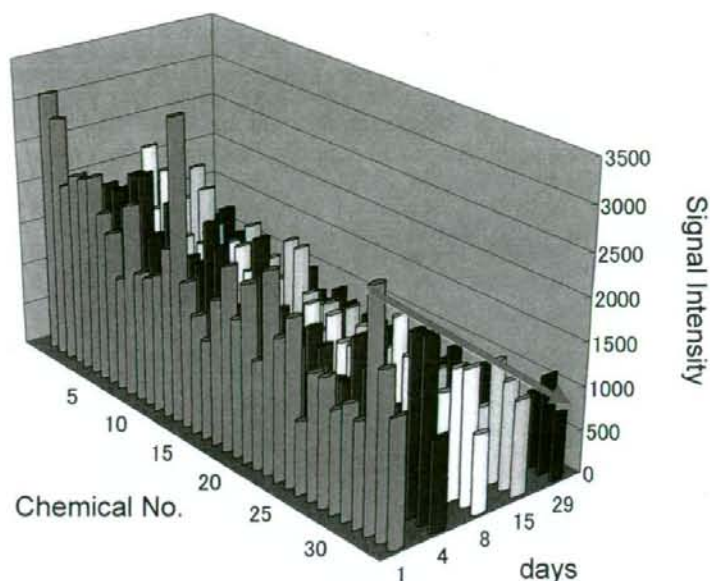


Steroid delta-isomerase 3



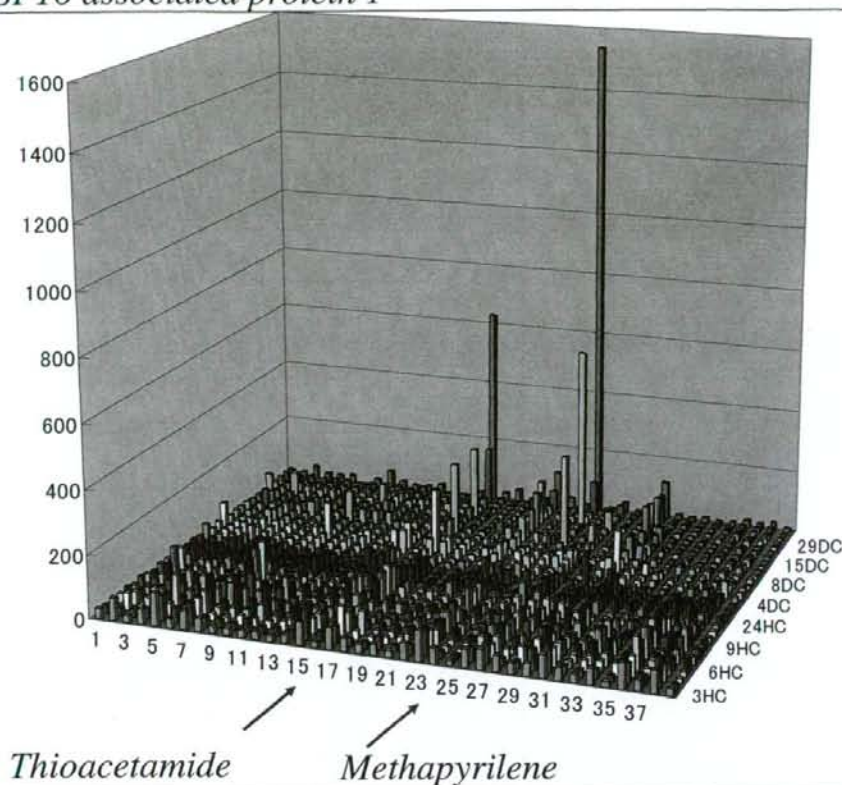


Hemoglobin beta chain complex



## 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

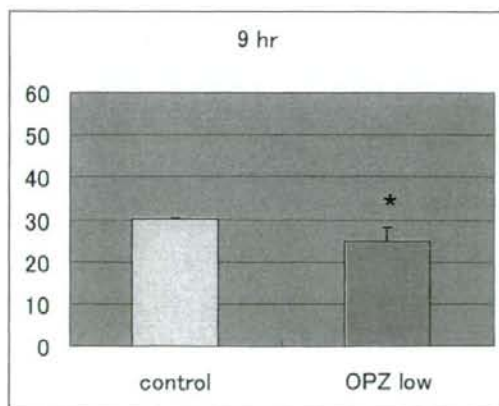
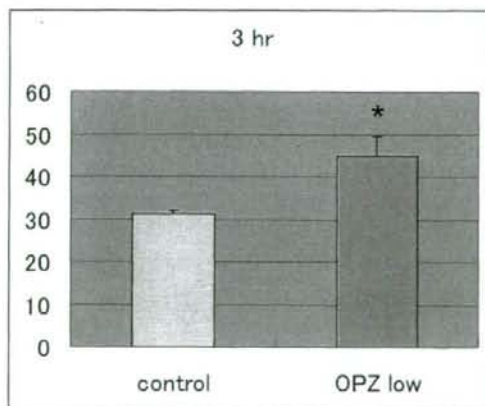
P<0.001

1639

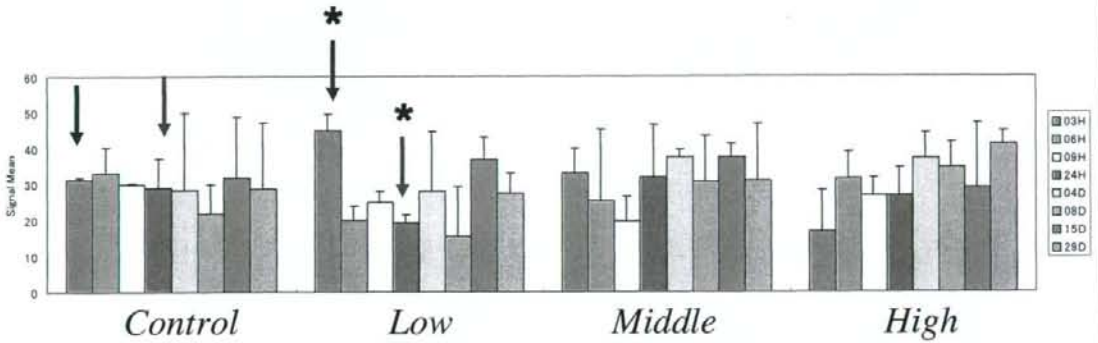
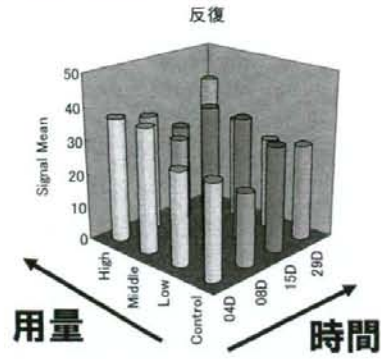
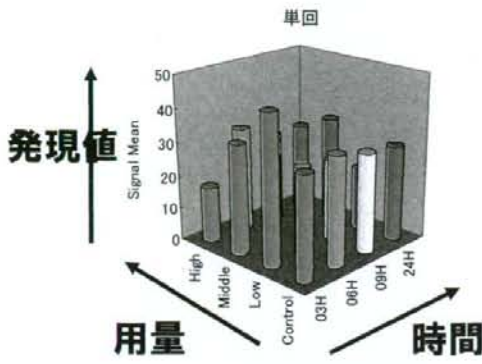
380784

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	L	M	H	
1367452.a	SMT3 suppressor of mif two 3 homolog													*	*											*
1367453.a	cell division cycle 37 homolog (S. cerevisiae)					*																				*
1367454.a	beta prime COP																									*
1367455.a	valosin-containing protein										*	*			*							*	*			*
1367456.a	ubiquitin-conjugating enzyme E2D 3 (Hs)										*	*	*									*	*			*
1367457.a	beclin 1 (coiled-coil, myosin-like BCL2 family)			*																						*
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	shah binding protein 1 FBP interacting	*	*	*																						*
1367465.a	defender against cell death 1																			*	*		*	*		*
1367466.a	Similar to splicing factor Prp8								*																	*
1367467.a	Similar to nitrogen fixation cluster-like													*	*	*				*	*		*	*		*
1367468.a	Similar to leucine-rich-domain inter-													*	*	*				*	*		*	*		*
1367469.a	eukaryotic translation initiation factor 4E								*					*	*	*				*	*		*	*		*
1367470.a	Similar to SAR1a gene homolog								*					*	*	*				*	*		*	*		*
1367471.a	Similar to Polr2e protein			*				*					*	*	*				*	*		*	*		*	*
1367472.a	NA		*	*				*				*	*	*				*	*		*	*		*	*	*
1367473.a	Similar to Mitochondrial import receptor		*	*		*	*	*				*	*	*				*	*		*	*		*	*	*
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													*	*	*	*	*	*		*	*		*	*	*
1367480.a	NA					*								*	*	*				*	*		*	*		*
1367481.a	Similar to vacuolar protein sorting 28												*	*	*				*	*		*	*		*	*
1367482.a	Transcribed sequence with strong similarity to													*	*	*				*	*		*	*		*
1367483.a	Similar to RIKEN cDNA 3110001D03													*	*	*				*	*		*	*		*
1367484.a	Transcribed sequence with strong similarity to					*	*	*	*					*	*	*				*	*		*	*		*
1367485.a	Similar to transcription elongation factor					*						*						*	*		*	*		*	*	*
1367486.a	Similar to zinc finger protein 289											*						*	*		*	*		*	*	*

## Omeprazole on 1393856x



# Omeprazole on 1393856x



# ヘムオキシゲナーゼ1

