

# トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクトにおける安全性バイオマーカー探索

(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  
同志社女子大学薬学部病態生理学

漆谷徹郎

第31回日本臨床薬理学会年会 2010.12.1

## トキシコゲノミクス Toxicogenomics

### 医薬品安全性研究のパラダイムシフト

#### 1. ゲノミクス Genomics

臨床においてジェノタイプと作用・副作用(疾患)の関連を解明

例) 副作用=目的変数、遺伝子=説明変数としたロジスティック回帰分析によるオッズ比の計算

臨床に直結、説明変数にぶれがない  $\longleftrightarrow$  新薬には適用できない

#### 2. トランスクリプトミクス Transcriptomics

マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析: 毒性試験に代わりうるか?

新薬に適用できる  $\longleftrightarrow$  臨床から遠い、説明変数に生物学的なぶれがある

## 第1期 トキシコゲノミクスプロジェクト(TGP1) H14~18年度



### 立ち上げ

プロジェクトリーダー:長尾拓・国衛研所長  
国立医薬品食品衛生研究所・菅野毒性部長

### 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

## 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

### 完成したデータベース規模

化合物数: 150

動物数: 24, 000匹

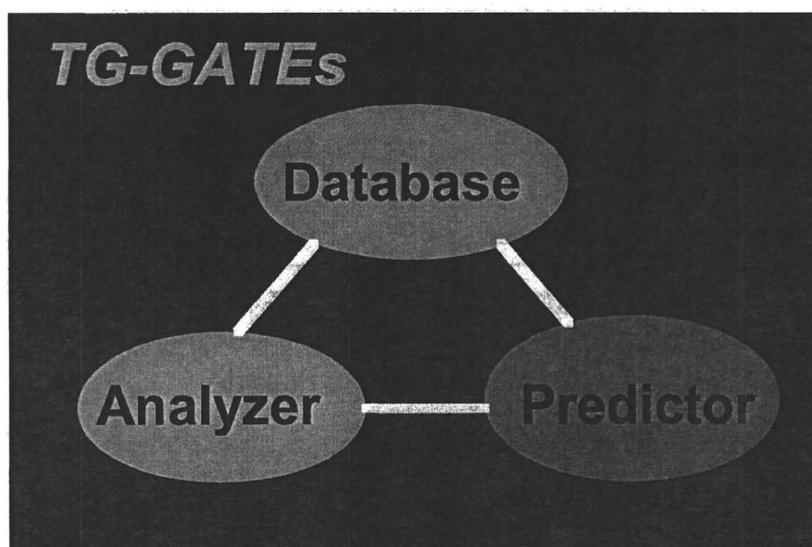
GeneChip数: 24, 000

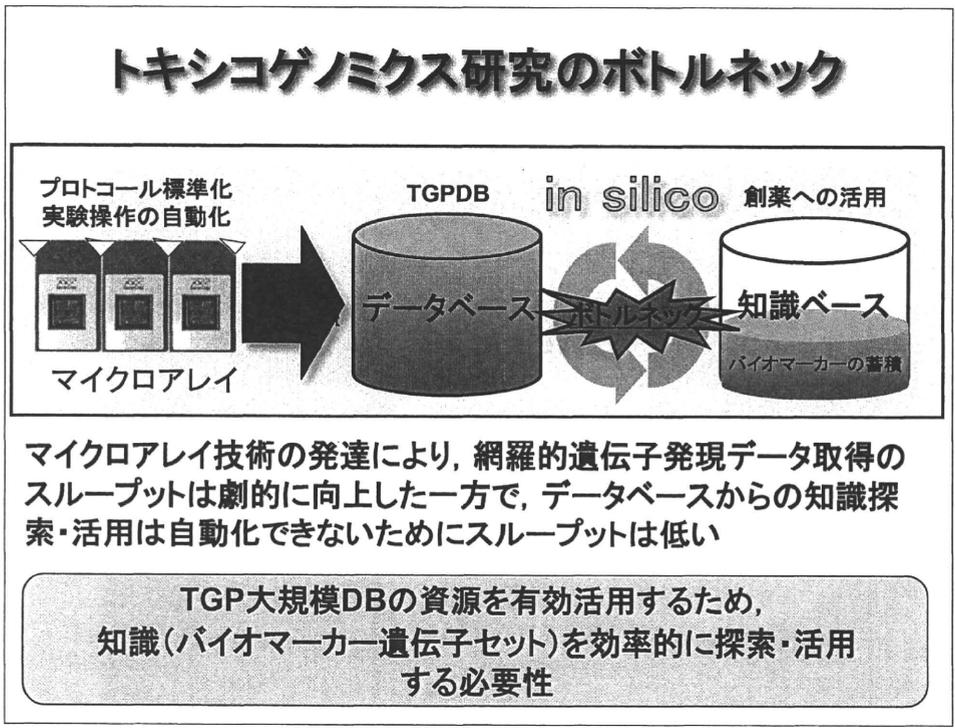
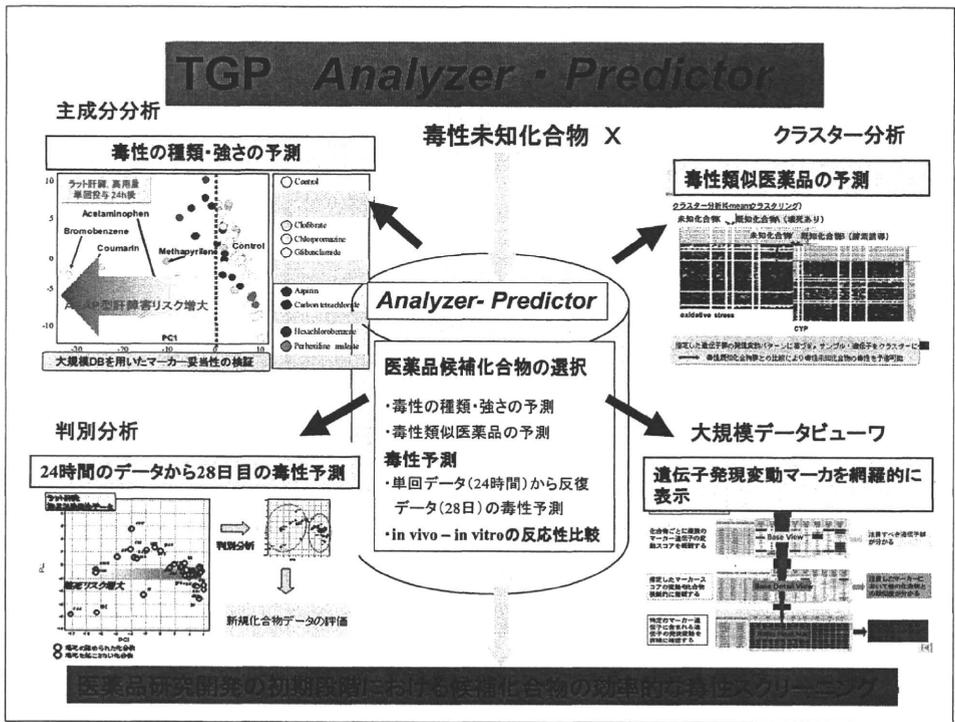
測定遺伝子数: 約800, 000, 000

測定検査値: 2, 880, 000項目

病理組織標本: 48, 000

### Genomics-Assisted Toxicity Evaluation System created by Toxicogenomics Project Japan





## 世界の動向

### 米国

- 2005 Guidance for Industry –Pharmacogenomics Data Submission-  
FDA:トキシコゲノミクス関連のデータ取扱に関するガイダンスの公表
- 2005 MicroArray Quality Control(MAQC)  
FDA,関連企業:マイクロアレイ技術の標準化検討開始
- 2006 Liver Toxicity Biomaker Study  
Predictive Safety Testing Consortium  
FDA,製薬企業など:肝毒性予測マーカーなどの開発に着手

### 欧州

- 2006 The InnoMed consortium  
製薬企業、大学など:毒性予測システムの開発に着手

### 日本

- 2002 トキシコゲノミクスプロジェクト開始
- 2005 厚生労働省:ファーマコゲノミクス関連のデータ提供などに関するガイダンスの公表
- 2007 ポストトキシコゲノミクスプロジェクト開始

## トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト(TGP2)H19～H23

プロジェクトリーダー:大野泰雄 国立医薬品食品衛生研究所副所長

- 1) TGP1の成果(TG-GATEs)を活用してバイオマーカー候補を創出する
- 2) トランスクリプトームおよびそれ以外の手法を用いて種差の壁に挑戦する
- 3) トキシコゲノミクス手法の施設間バリデーションを行い、レギュラトリーサイエンスへの応用の基盤を整備する

## 創薬(安全性)バイオマーカーの開発

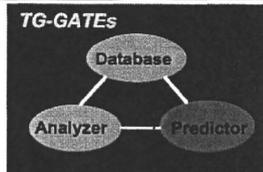
→わが国の新薬開発の加速化・効率化

指定研究

2007~

医薬基盤研

製薬企業13社



安全性バイオマーカーの探索

種差の壁の克服

トランスクリプトームデータバリデーション

研究推進  
委員会

公募研究

2008~

藤村昭夫 (自治医科大学)

水島 徹 (熊本大学)

増田智先 (京都大学)

分担研究

菅野純(国衛研)  
ヒト型マウスの作製

水川裕美子(同志社女子大)  
バイオマーカーの検証

三森国敏(東京農工大)  
病理レビュー

安全で有効な  
医薬品の創製  
国際競争力の向上

## トキシコゲノミクス・インフォマティクス プロジェクト(TGP2)

H19~H23

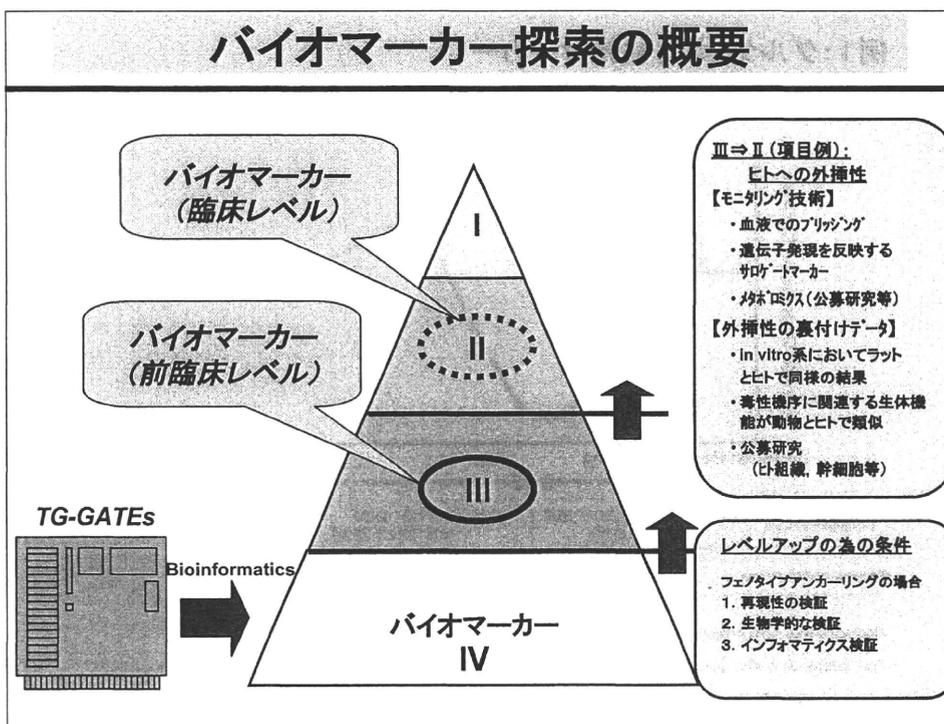
- 1) TGP1の成果(TG-GATEs)を活用してバイオマーカー候補を創出する:目標 30種
- 2) トランスクリプトームおよびそれ以外の手法を用いて種差の壁に挑戦する
- 3) トキシコゲノミクス手法の施設間バリデーションを行い、レギュラトリーサイエンスへの応用の基盤を整備する

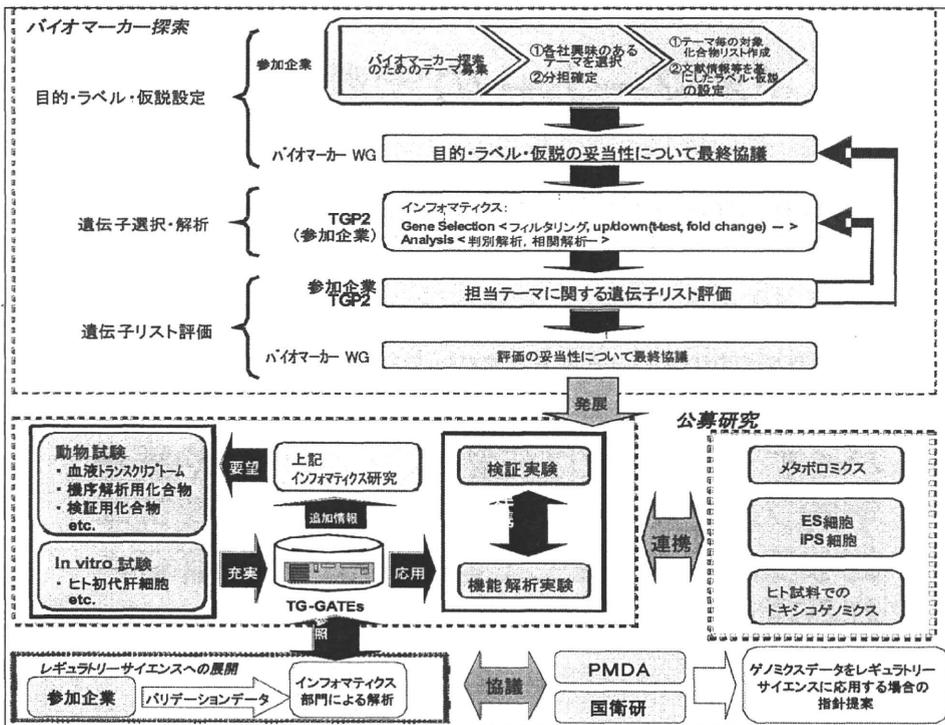
## バイオマーカーの定義 (FDA)

- A characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biologic processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses to a therapeutic intervention.

バイオマーカーとは生物学的プロセスや病理学的プロセス、あるいは治療に対する薬理的な反応の指標として客観的に測定・評価される項目である。

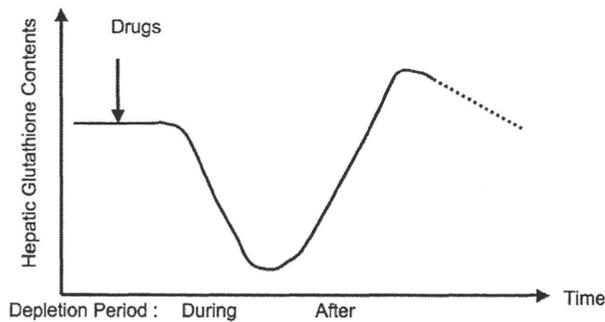
## バイオマーカー探索の概要



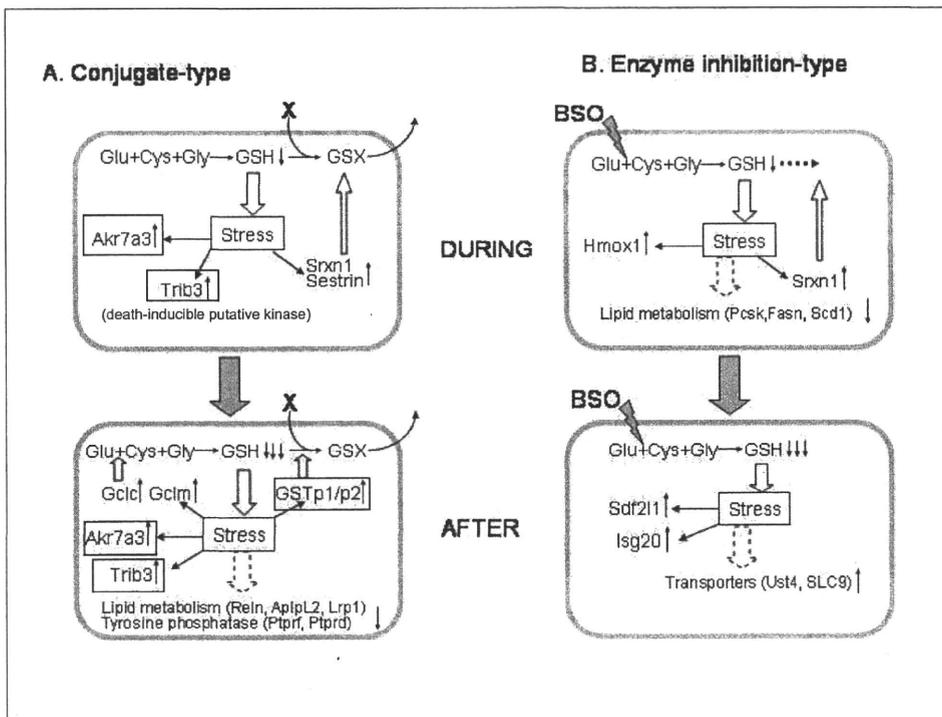
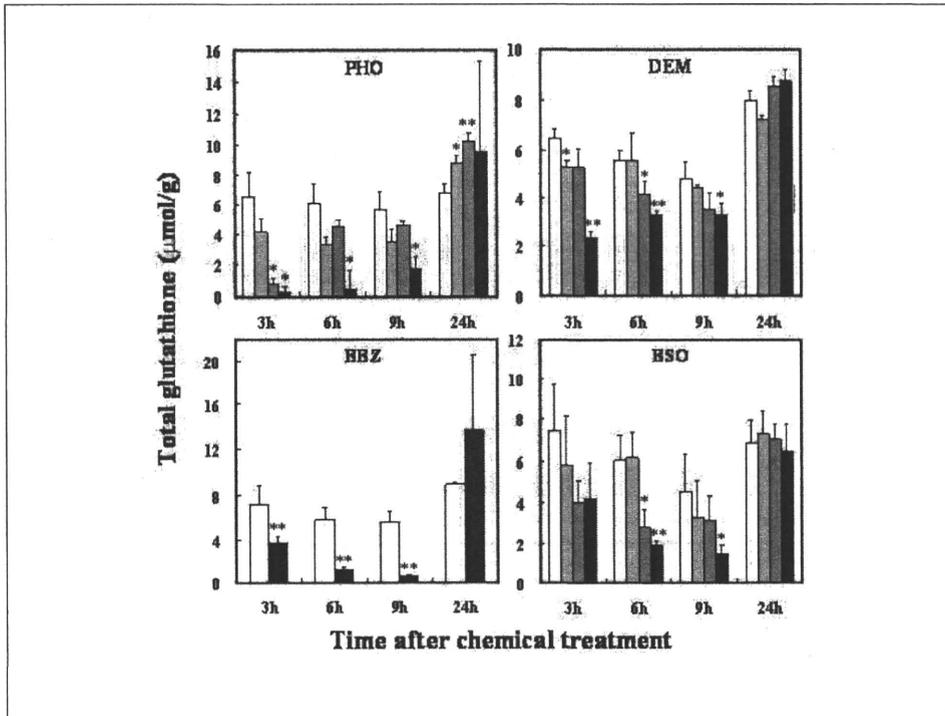


例1: グルタチオン枯渇マーカー

Toxicol Appl Pharmacol. 247(3):211-21, 2010



|                                   | During   | After                               |
|-----------------------------------|--|-------------------------------------|
| Conjugation-type                  | Marker I: PHO∩DEM∩BBZ (3 hr)                                     | Marker II: PHO∩DEM (6 hr∩9hr∩24 hr) |
| Enzyme inhibition-type            | Marker III: BSO (6 hr)   | Marker IV: BSO (9 hr∩24 hr)         |
| Conjugate-type, time independent  | Marker V: Marker I∩Marker II                                     |                                     |
| Type-independent, after depletion | Marker VI: PHO(6,9,24hr)∩DEM(6,9,24hr)∩BBZ(6,9,24hr)∩BSO(9,24hr) |                                     |



A

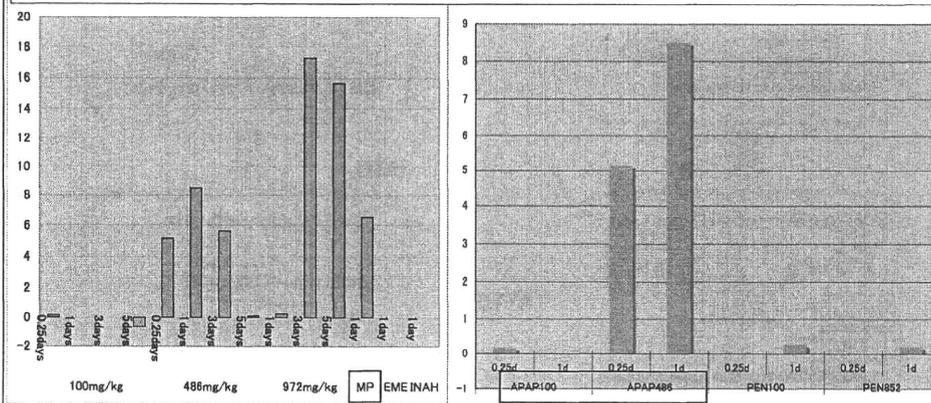
|      | 3 hr |        |       | 6 hr  |        |      | 9 hr  |        |       | 24 hr |        |       |
|------|------|--------|-------|-------|--------|------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|
|      | Low  | Middle | High  | Low   | Middle | High | Low   | Middle | High  | Low   | Middle | High  |
| APAP | 4.3  | 2.5    | -0.8  | 39    | 80.9   | 40.2 | -3.2  | 32.9   | 12    | 22.2  |        |       |
| INAH | -0.1 | 0      | -0.1  | 0.7   | 0.6    | -6.8 | 2.1   | -0.3   | 1.1   | -2.4  | -8.3   | -2.5  |
| TAA  | -0.8 | 0.3    | 1.2   | 0     | 1.7    | 1.9  | -3.3  | 0.7    | 1.2   | 3.1   | 76.7   | 166.8 |
| ET   | -1.4 | -7.4   | -0.9  | -3.9  | -8     | -16  | -2.1  | -0.4   | -0.6  | -0.9  | 0      | 5.6   |
| HCB  | 0.7  | 0.6    | 0     | 2.7   | 1.2    | 1.9  | 3     | 2.2    | -0.1  | 0.5   | 15.7   | 0     |
| MP   | 0.2  | 2.9    | 72.3  | 3     | 45.1   |      | 2.5   | 15.5   | 301.1 | -0.4  | 2.3    | 383.2 |
| EME  | 56.7 | 26.6   | 2.6   | 145.1 | 197.2  | -0.1 | 232.8 |        | 30.1  |       |        |       |
| BSO  | 27.5 | 31.8   | 163.7 | 89.3  | 376.9  |      | 80.3  | 327.9  |       | 206.9 | 26.4   |       |
| PH   | 0.3  | 1.7    | 4.8   | 1.7   | -0.1   | -22  | 12.4  | 7.4    | 2.2   | 0.1   | -0.6   | 0.3   |
| GBC  | -4   | -0.3   | -0.1  | -8.2  | -7.1   | 0.2  | 0.2   | -1.2   | 0.1   | -6.5  | -4.6   | 0.6   |
| MP2  | 57.7 | 351    | 155.3 | 113.6 |        |      | 175.5 |        |       | 4.5   | 358.2  |       |
| EME  | 0    | 0      | -0.1  | 1.8   | -0.3   | 6.3  | -6.5  | -1.2   | -1.4  | -0.5  | 4.3    | 0.7   |
| PEN  | -4.1 | 0.6    | -0.6  | 17.8  | 0.3    | 13.6 | -0.1  | 5.2    | 11.9  | -0.9  | -0.2   | -0.2  |
| MP3  | 27.9 |        |       | 128.9 |        |      | 89.3  |        |       | 1.2   | 117.5  |       |
| BSO  | 0.6  | 0.1    | 0.7   | -0.1  | -0.2   | 0.1  | 6.1   | 3.2    | 26.8  | 1.4   | -1.3   | 35.8  |
| MP4  | 42.4 | 377    |       | 154.3 |        |      | 38.2  |        |       | 3.7   | 84     |       |
| GMC  | -0.1 | 0      | -0.5  | -0.2  | 5.9    | 21.2 | 0.2   | 0.3    | -1.6  | 2.3   | 0.7    | -0.2  |

| Probe set ID | Gene name  | Gene symbol |
|--------------|--|-------------|
| 1368121_at   | aldo-keto reductase family 7, member A3 (aflatoxin aldehyde reductase) | Akr7a3      |
| 1386221_f_at | troubles homolog 3 (Drosophila)  | Trb3        |
| 1388122_at   | glutathione-S-transferase, pi 1  | Gstp1       |

## 外部データ(GEO)による検証

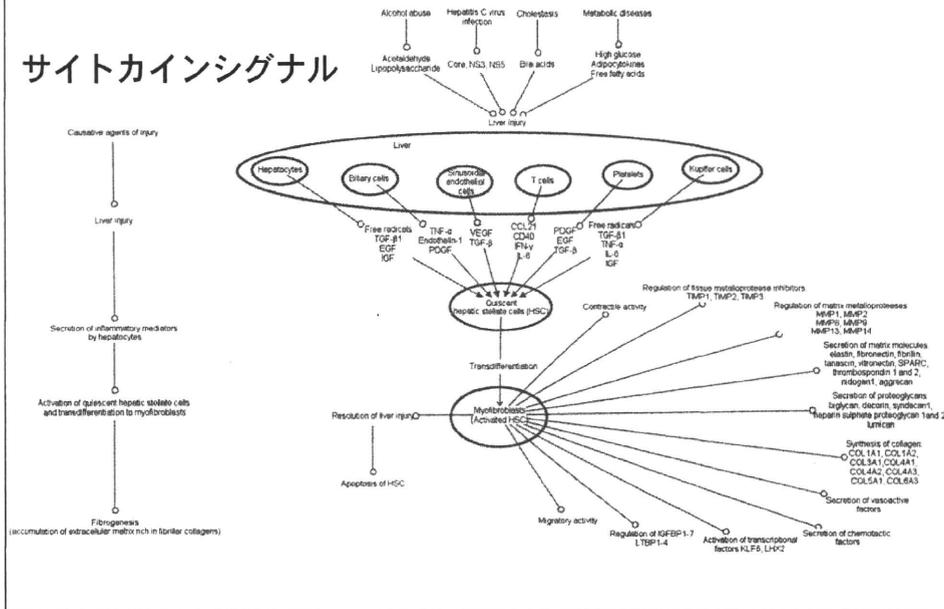
(TGP-1スコアによるスコア化)

APAP, MP, EME, INAH Agilent APAP, PEN 2色チップ



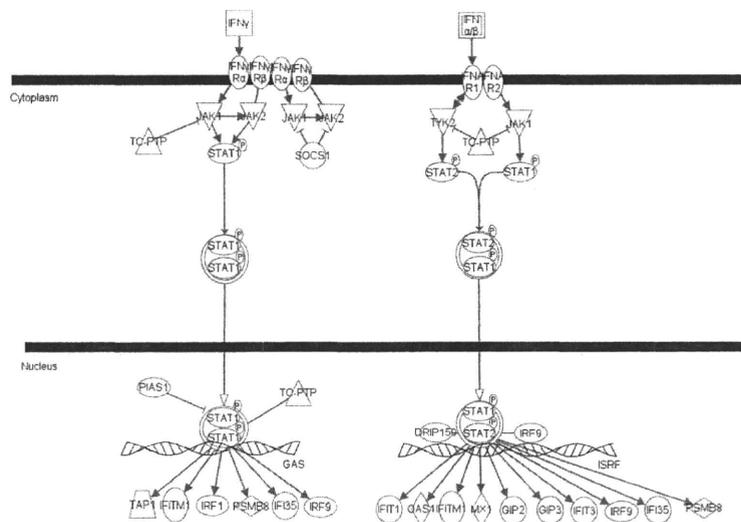
## 例 2 : シグナルパスウェイからのマーカー抽出

### サイトカインシグナル

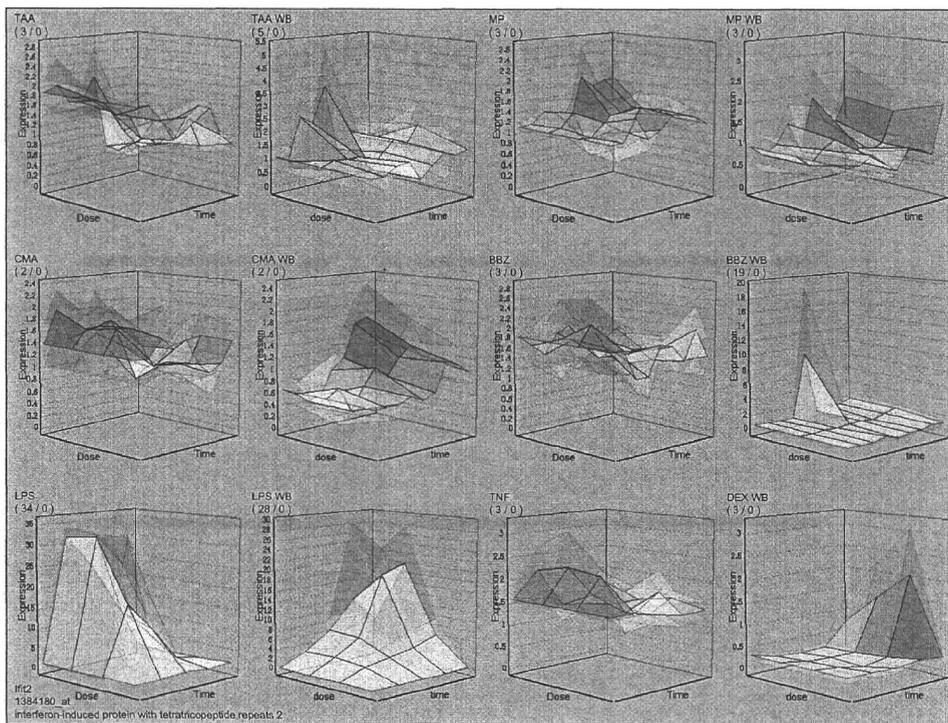
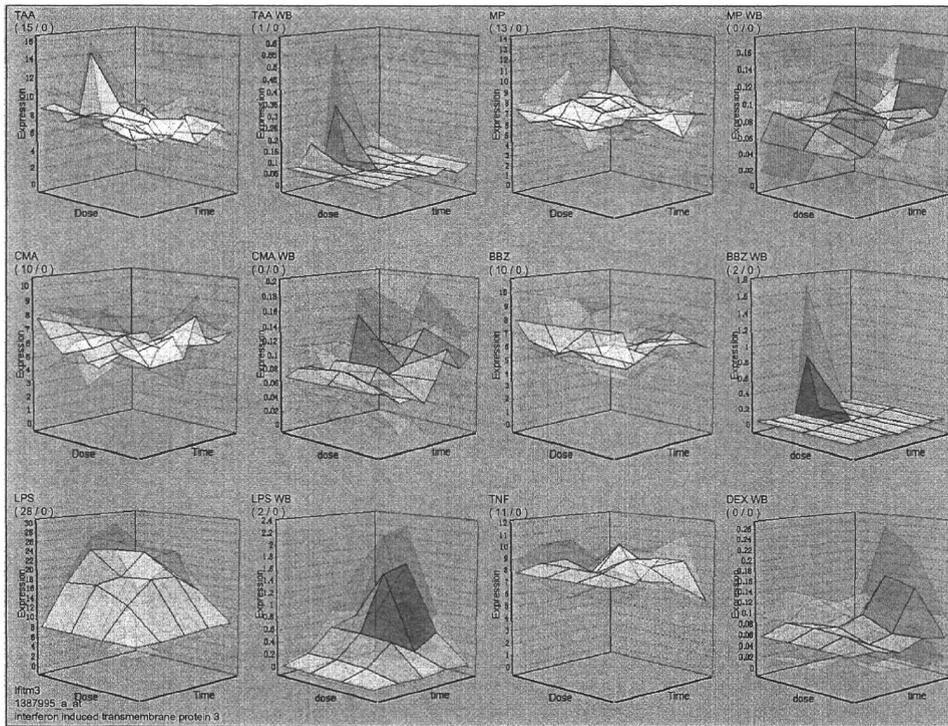


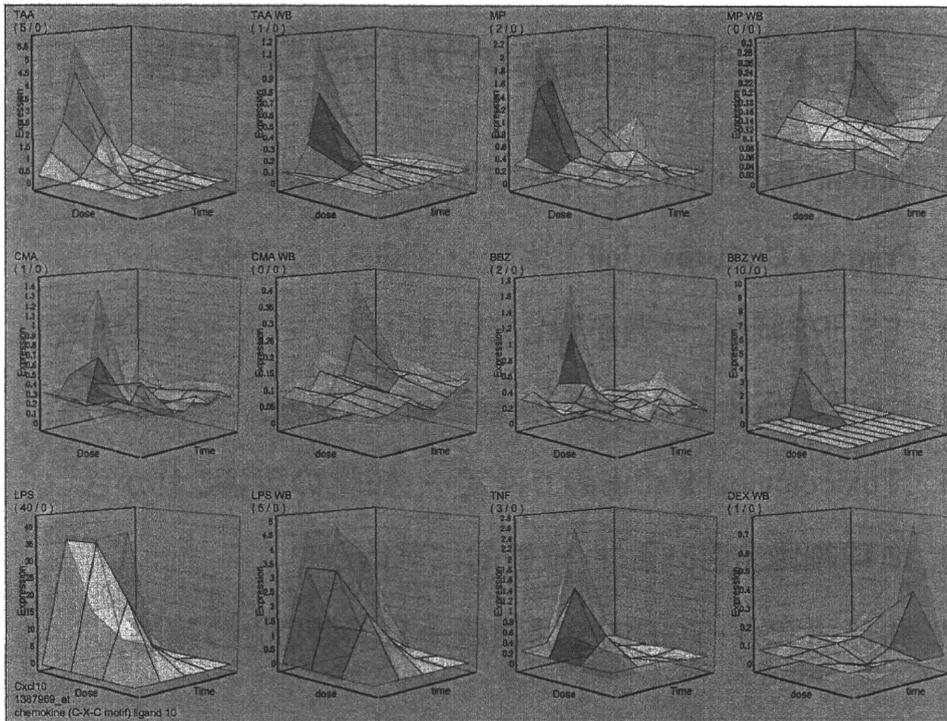
## Interferon Signaling

Interferon Signaling



© 2020 IDB Bioscience Systems, Inc. All rights reserved.





## トキシゲノミクス・インフォマティクス プロジェクト(TGP2) H19~H23

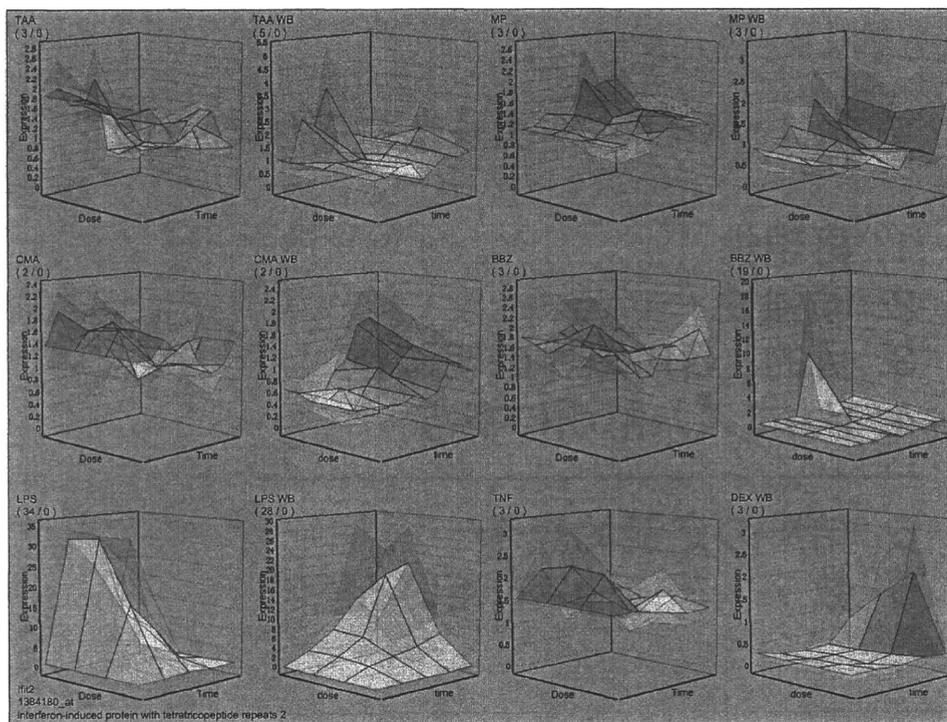
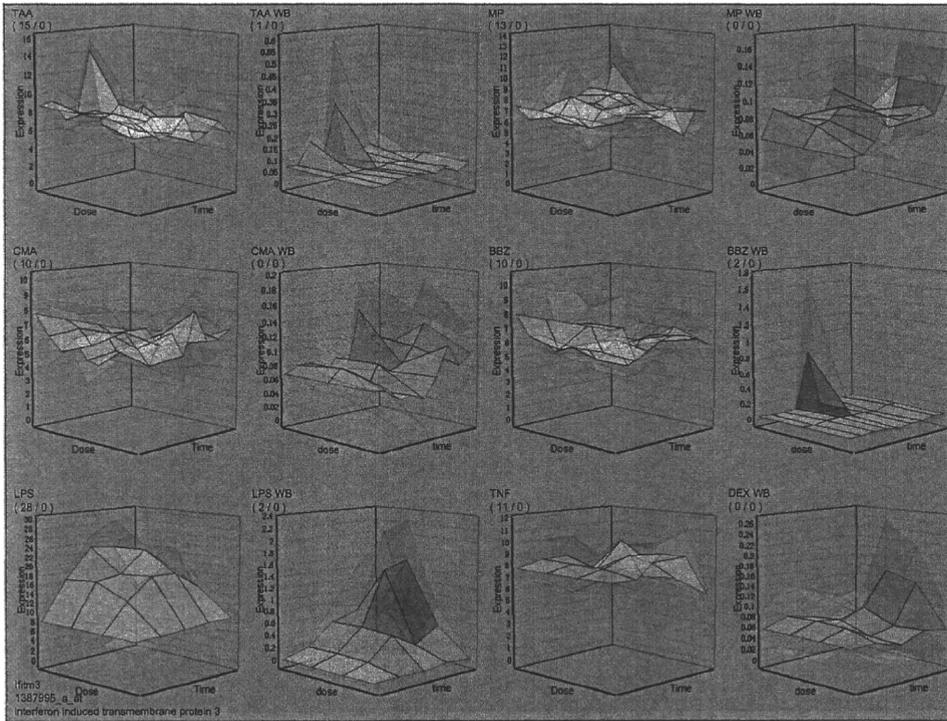
- 1) TGP1の成果(TG-GATEs)を活用してバイオマーカー候補を創出する
- 2) トランスクリプトームおよびそれ以外の手法を用いて種差の壁に挑戦する
- 3) トキシゲノミクス手法の施設間バリデーションを行い、レギュラトリーサイエンスへの応用の基盤を整備する

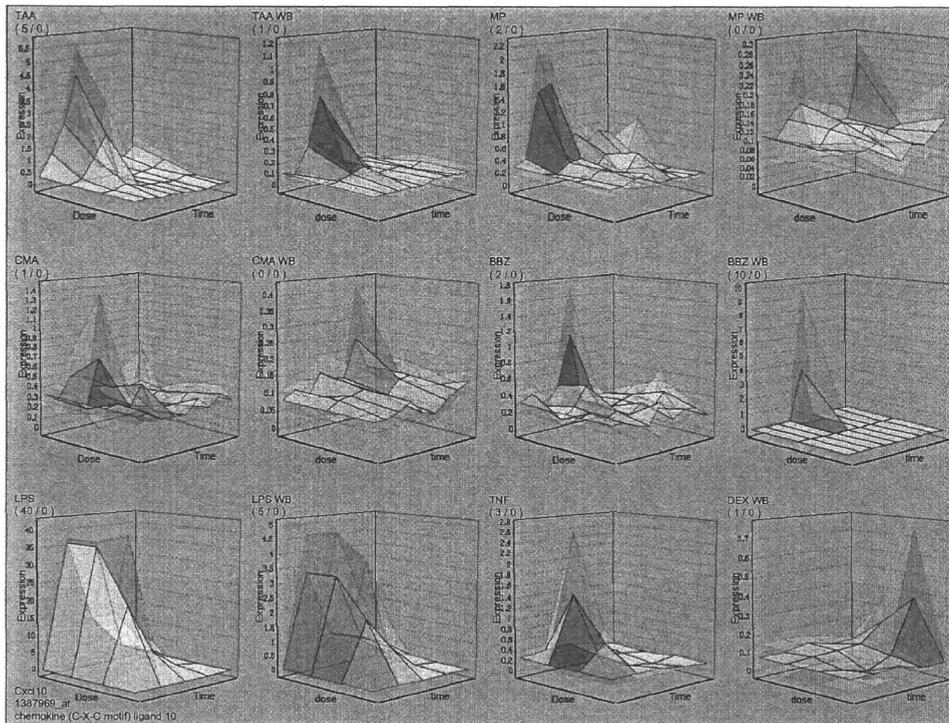
## ヒト→ラット:種差のブリッジング戦略

1. Human Cell Line・・・TGP1でHepG2を検討したが却下
2. Primary Cultured Cellで比較・・・TGP1・2で採用
3. ES, iPS細胞・・・機が熟していない(?)→スーパー特区
4. ヒト型遺伝子導入動物・・・分担研究(菅野)
5. Toxicological Pathwayで推定・・・知識の蓄積これから
6. 血球細胞を用いる・・・技術的に可能か?
7. 臨床研究・・・TGP内では困難→公募研究との連携

## 血液による臓器障害性診断・予測

1. 血液サンプルを用いたトランスクリプトミクス
  - \* 代表的な肝障害物質による薬物特異的な発現変動を観察
  - \* 網状赤血球変動の影響をキャンセルする方法の検討
2. 末梢血中mRNAを指標とした臓器障害バイオマーカー  
Toxicological Sciences 2008 106(2):538-545
3. 末梢血miRNAを指標とした臓器障害バイオマーカー  
PNAS 2009 106:4402-4407
4. 血漿サンプルのメタボロミクスとトランスクリプトミクスの融合

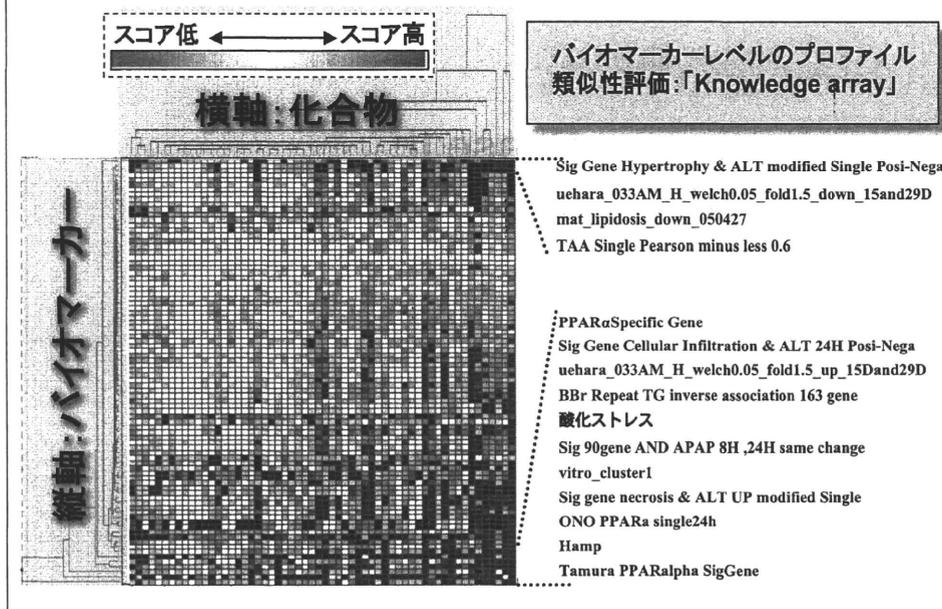




## 望ましいバイオマーカー遺伝子リストとは？

1. 再現性
  2. 頑強性
  3. 目的と適用限界の明確性
  4. メカニズム解明に寄与
- 
5. 結果の定量的表示
  6. 数？ ←チップを用いる意味

## バイオマーカーを活用した化合物評価



## トキシコゲノミクス・インフォマティクス プロジェクト(TGP2) H19~H23

- 1) TGP1の成果(TG-GATEs)を活用してバイオマーカー候補を創出する
- 2) トランスクリプトームで種差の壁に挑戦する
- 3) トキシコゲノミクス手法の施設間バリデーションを行い、レギュラトリーサイエンスへの応用の基盤を整備する

## Phase II: Multi-Platform Analysis (Agilent, 2 sites) 2008 - 2009

