

B

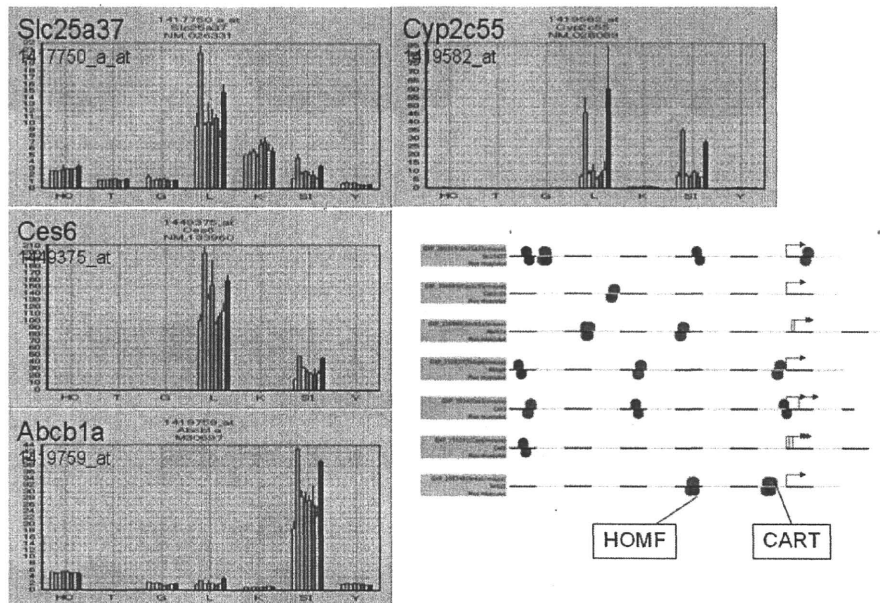


Figure 4 PXR 依存型発現変動遺伝子のプロモーター配列解析

「トキシコゲノミクスデータベースを活用した毒性メカニズムに基づく医薬品安全性評価に関する研究」

創薬基盤としての分子毒理学研究 -ヒトSXR生理的発現マウス系の 全身臓器トランスクリプトーム解析-

菅野 純、五十嵐勝秀
(国立医薬品食品衛生研究所毒性部)

H23.2.28

背景と目的

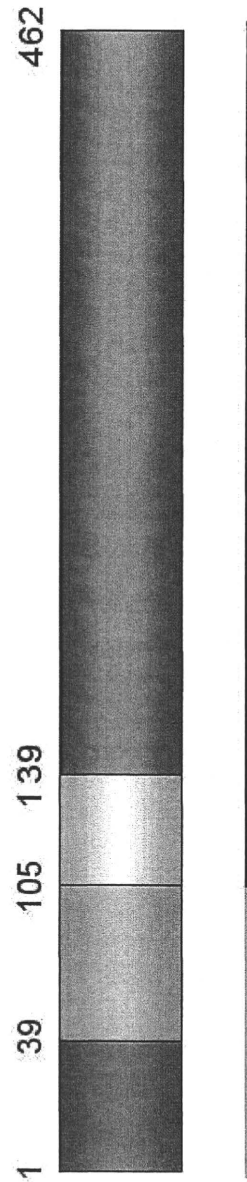
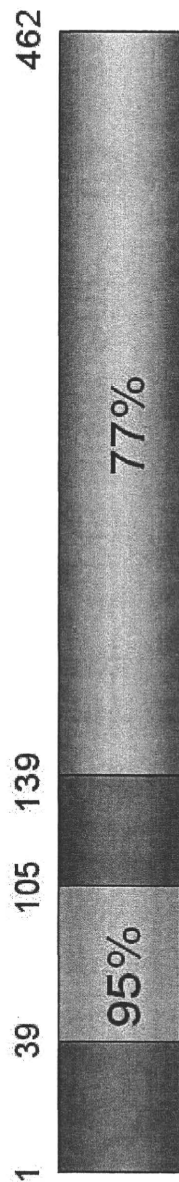
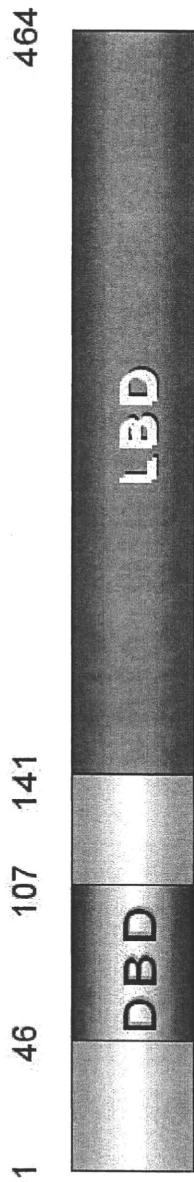
- 実験動物のデータをヒトへ外挿し毒性を予測する際、外来化学物質代謝機能の種差が問題となる。
- 薬剤代謝酵素の誘導に関わる重要な受容体であるPXRは、そのリガンド選択性に種差が大きいことが知られている
- 我々は、ヒトPXR(hPXR)のリガンド選択性を導入しつつ、全身諸臓器の毒性検討が可能且つ、その受容体の発現調節機構が生理的なマウスモデルを作出した
- 本発表では、本マウスのPXRリガンドに対する全身臓器のトランスクリプトーム解析を行ったのでその結果を報告する

hPXRki mouseの特徴

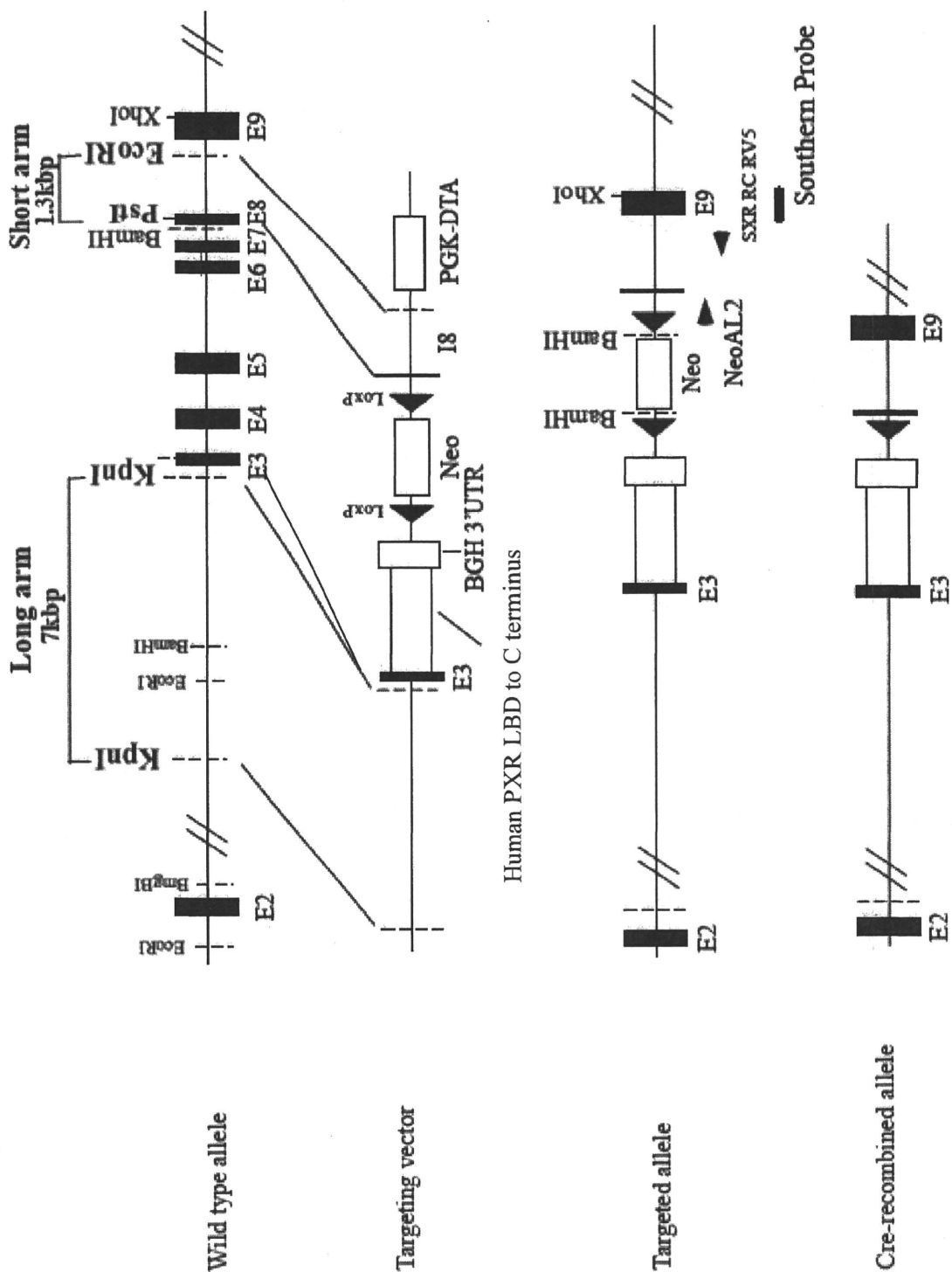
ヒトPXR(hPXR)のリガンド結合ドメイン(LBD)のみをマウスのLBDと入れ替えたバックインマウス(hPXRki mouse)

- マウスゲノム内に多数存在するcis-elementへの結合パターンに変化が生じない
- mPXR本来の組織発現パターンが保たれる
- hPXRの発現及び上流、下流の制御は野生型と同等
- リガンド特異性のみがヒト型化したマウスモデル

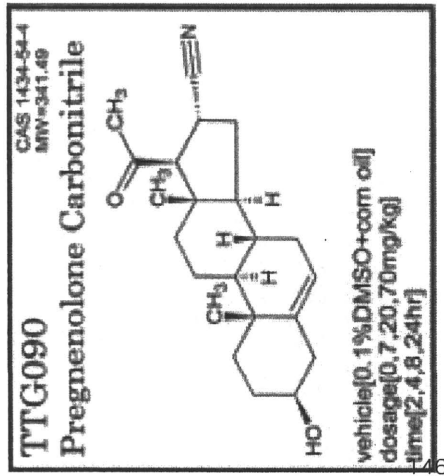
hPXRki: LBDのみヒト型化



組換え方針



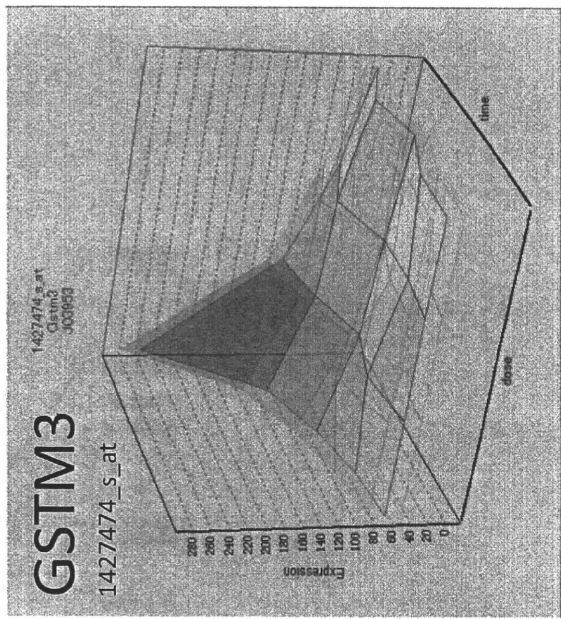
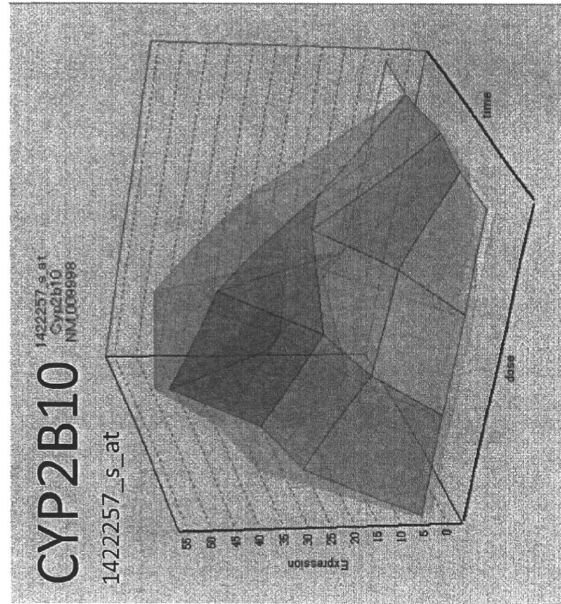
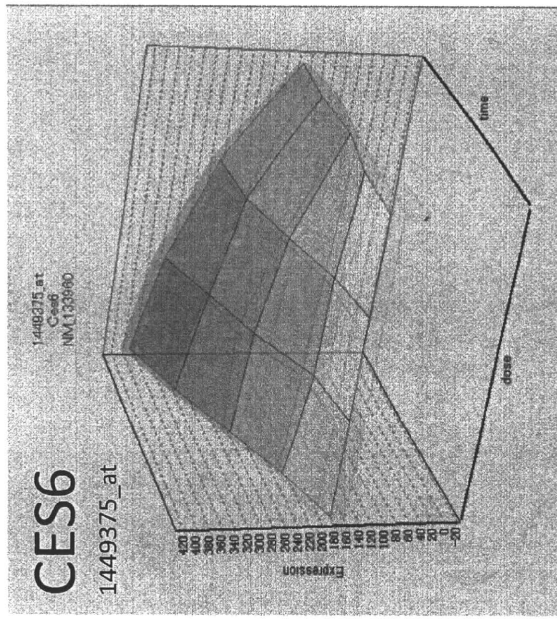
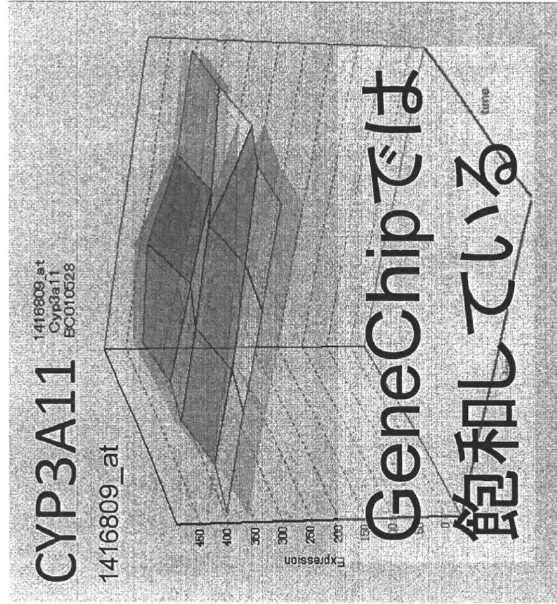
マウス型物質PCNによる発現変動



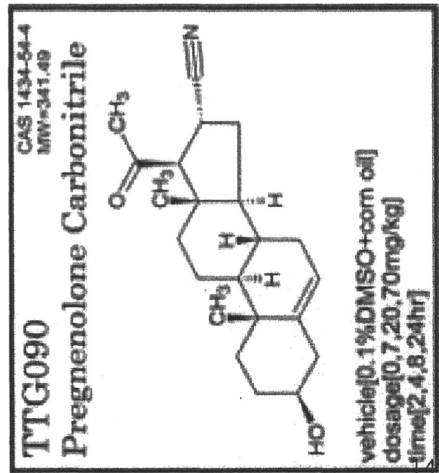
PCN:
 Pregnenolone
 Carbonitrile

GeneChipでは
 CYP3A11は飽和傾向
 ↓
 定量RT-PCRで検討

Wild type TTG090 Liver Percellome data



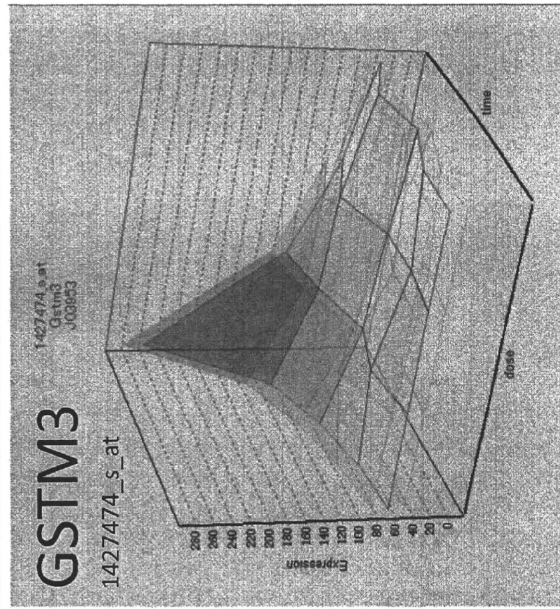
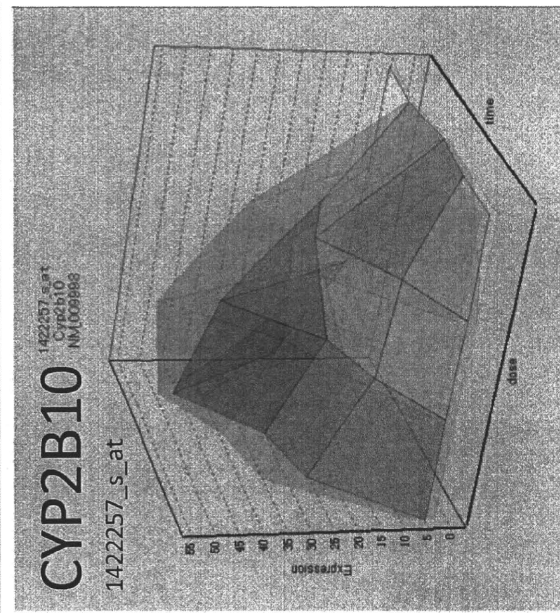
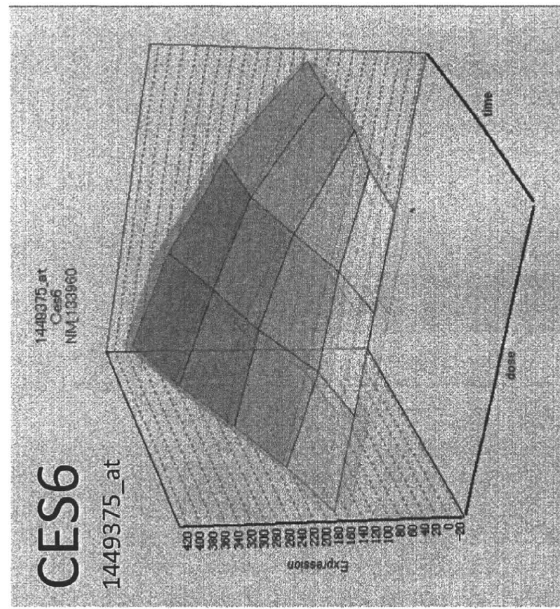
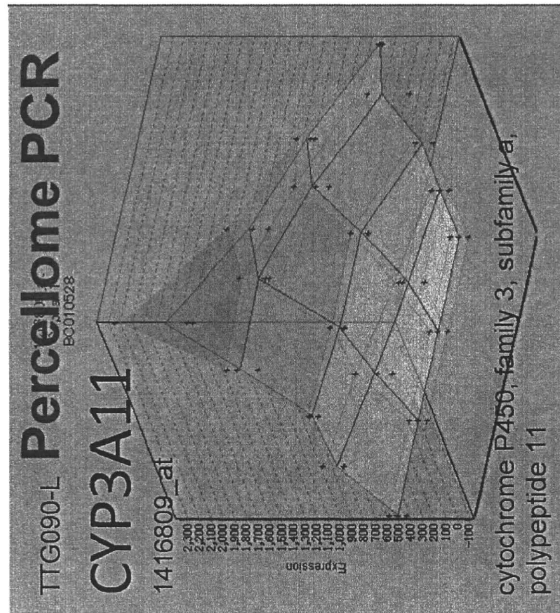
マウス型物質PCNによる発現変動



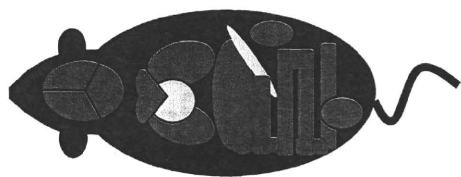
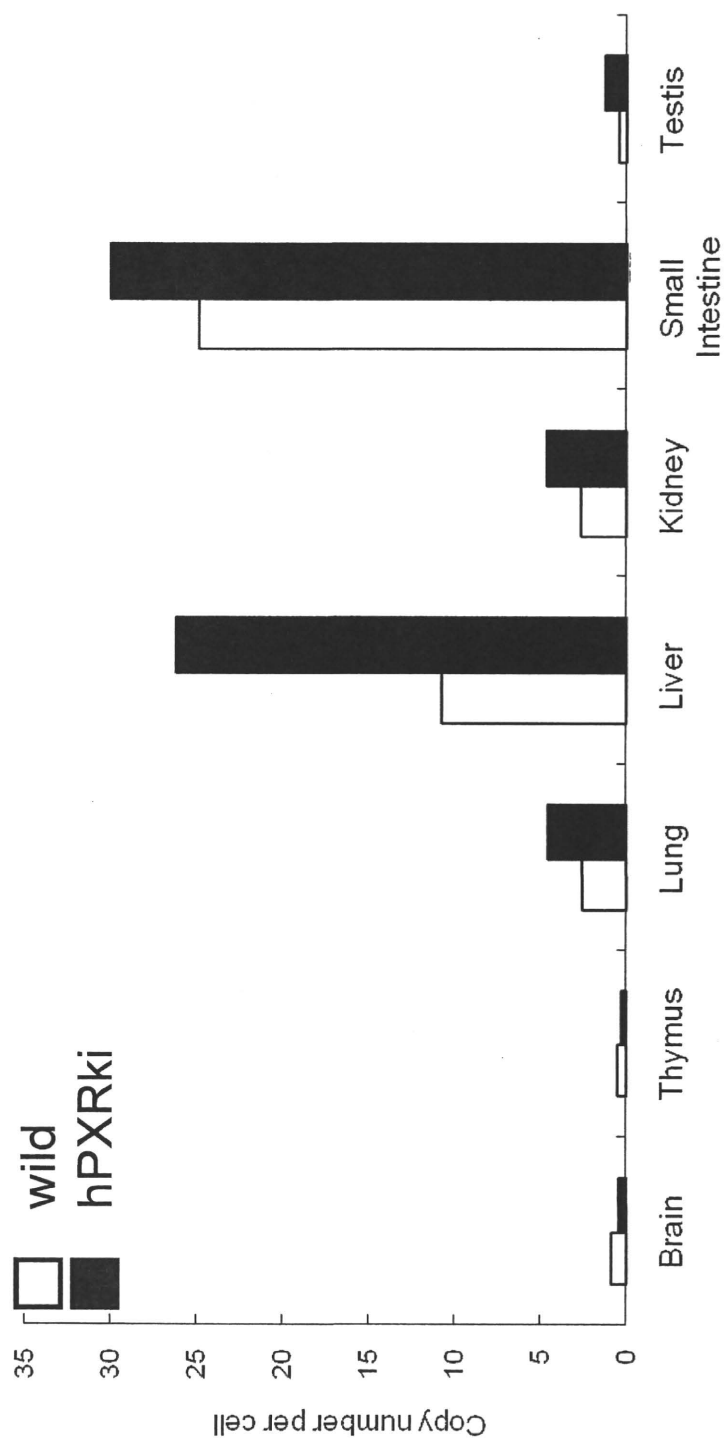
PCN:
 Pregnenolone
 Carbonitrile

GeneChipでは
 CYP3A11は飽和傾向
 ↓
 定量RT-PCRで検討

Wild type TTG090 Liver Percellome data



各臓器におけるPXR発現

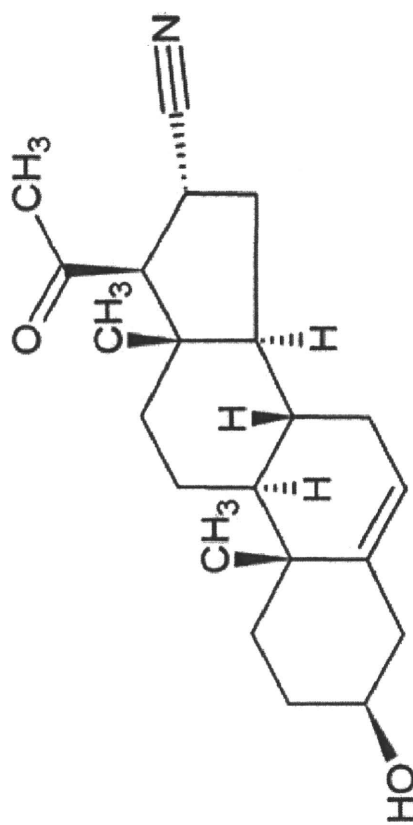


Wild と hSXRKI(ヒト型化) に
RIF あるいは PCN を経口投与し
8時間後の遺伝子発現を観測 (Percellome法)

マウス選択的ナリガンド

PCN
CAS 1434-54-4
MW=341.49

Pregnenolone Carbonitrile



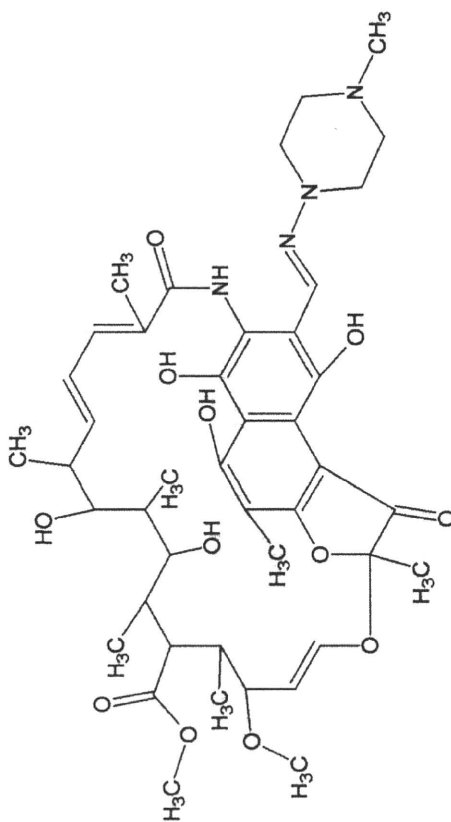
vehicle[0.1%DMSO+corn oil]

0, 20, 70, 200mg/kg x 8hr

ヒト選択的ナリガンド

RIF
CAS 13292-46-1
MW=822.95

Rifampicin



vehicle[0.1%DMSO+corn oil]

0, 10, 30, 100mg/kg x 8hr

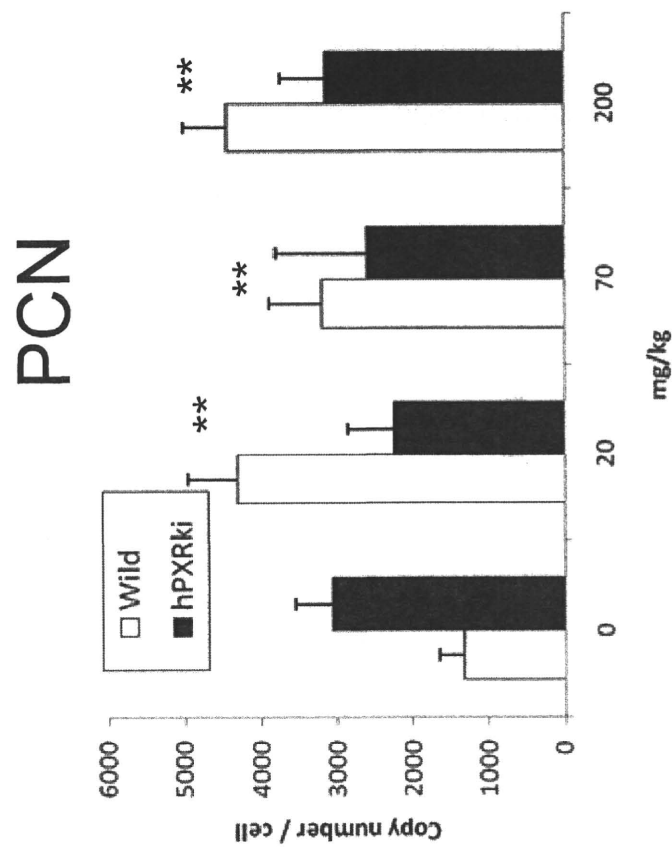
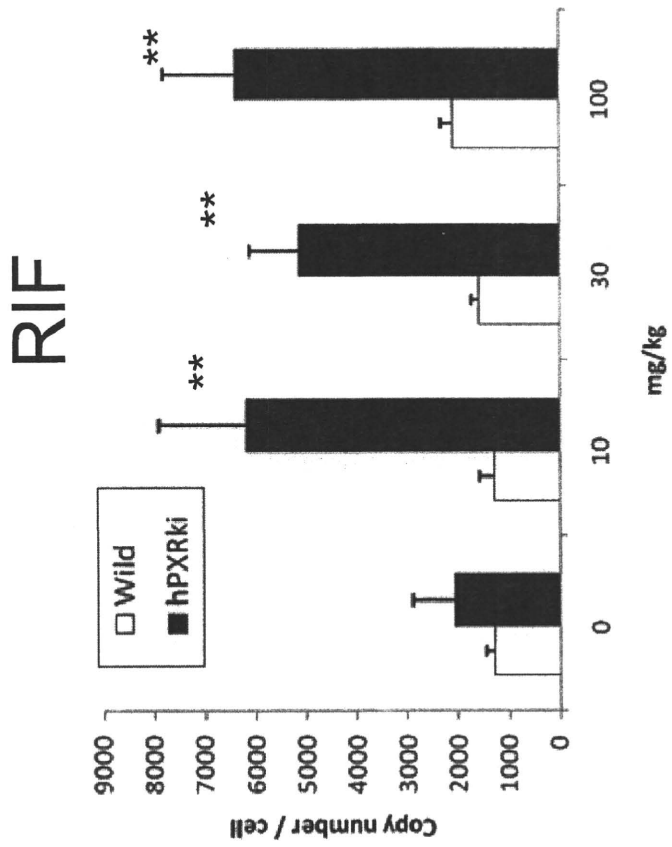
肝、小腸におけるPXR活性化の確認

Percellome 定量RT-PCRにて、PXR標的遺伝子の
CYP3A11, CES6を測定



PCNは野生型、RIFはhPXRkiにおいて両遺伝子
発現を上昇させることを確認した

Liver: CYP3A11



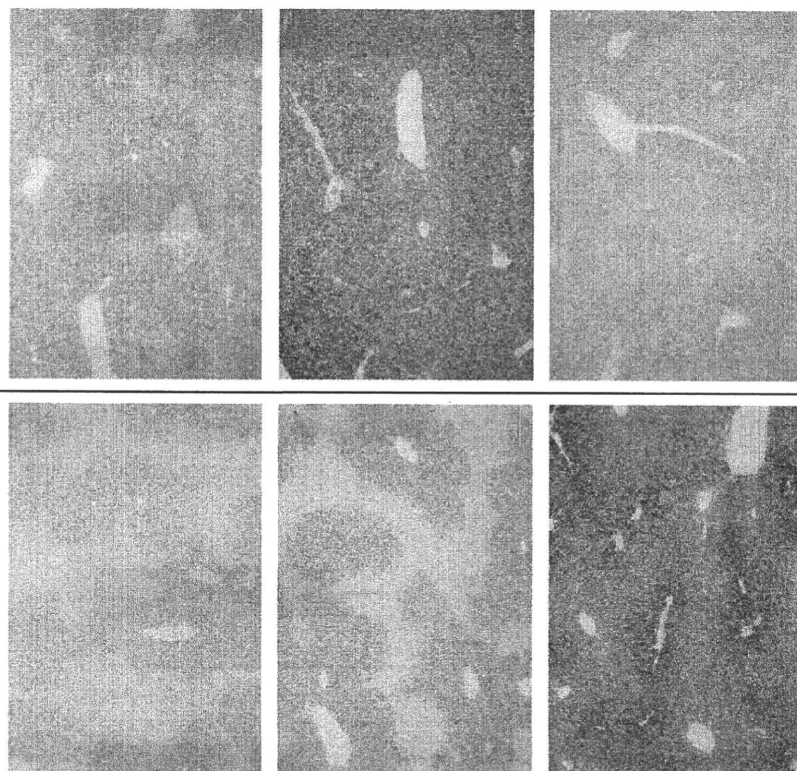
肝におけるCYP3A11発現誘導

ISH

Vehicle

Rifampicin

PCN



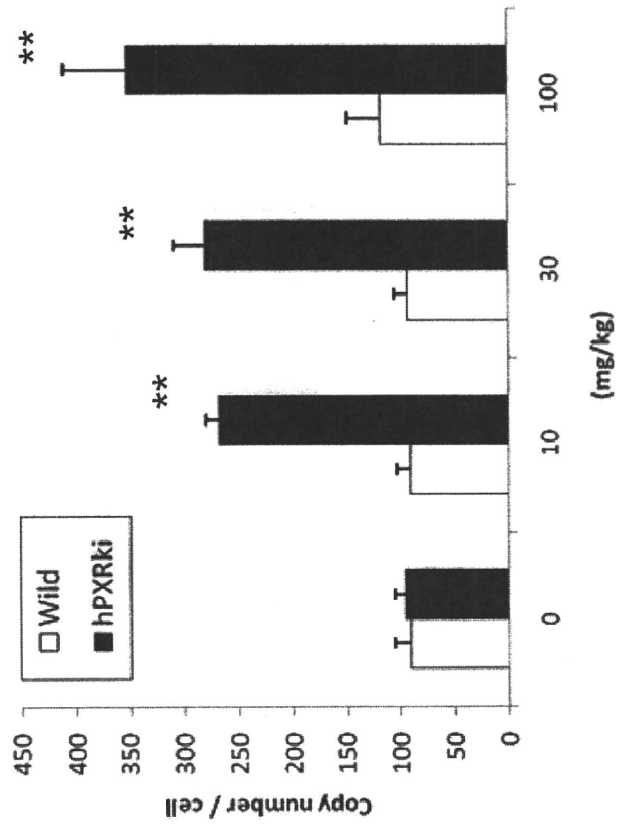
Wild

hPXRki

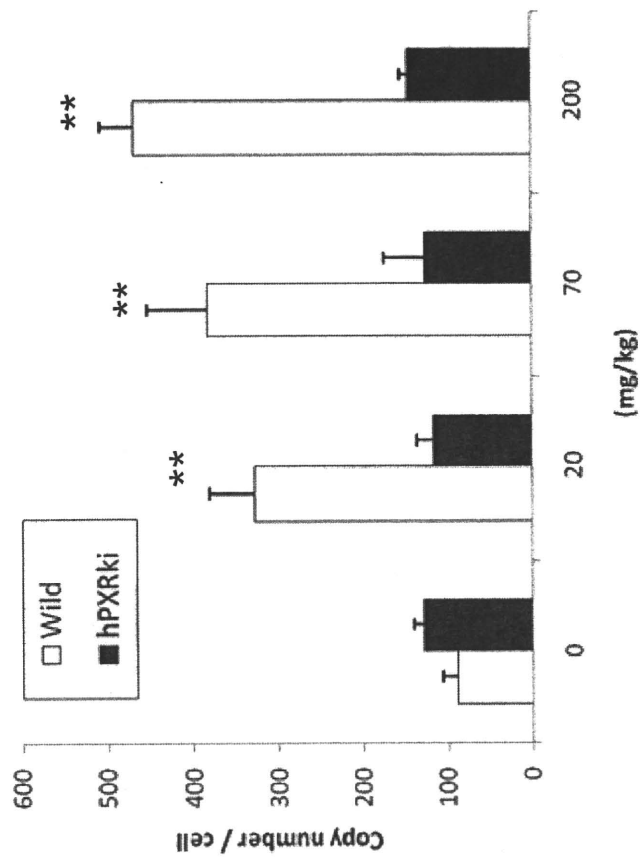
Liver

Liver: CES6

RIF

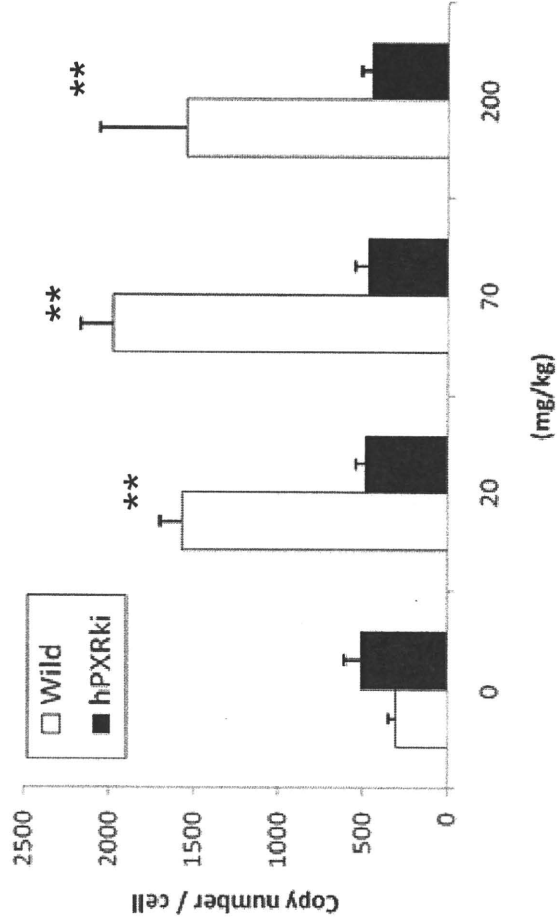


PCN

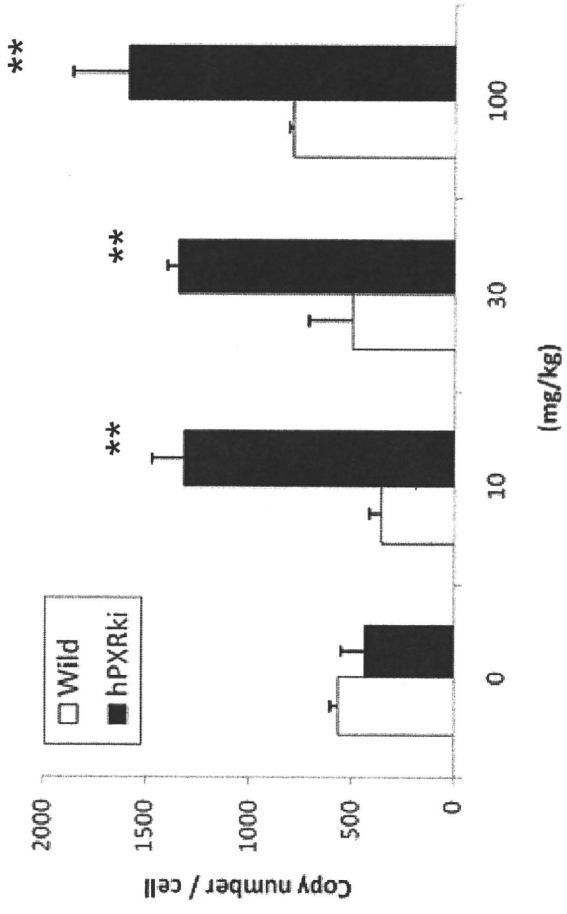


Small Intestine: CYP3A11

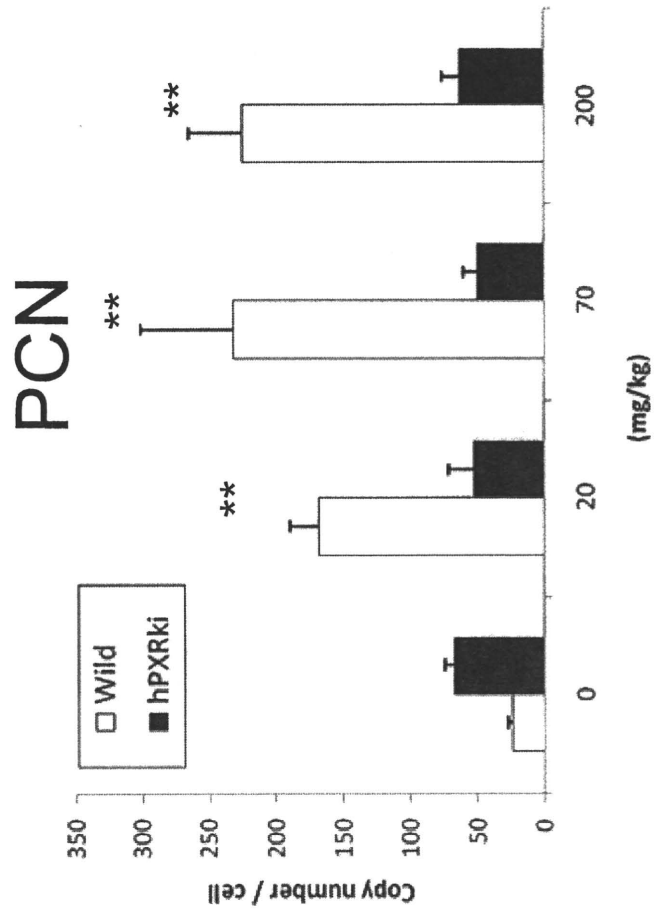
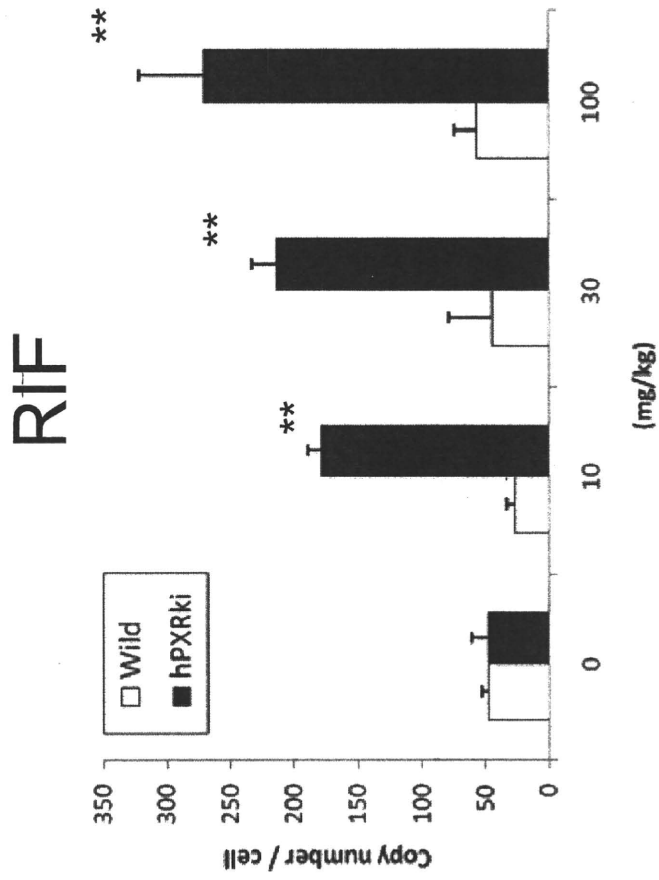
PCN



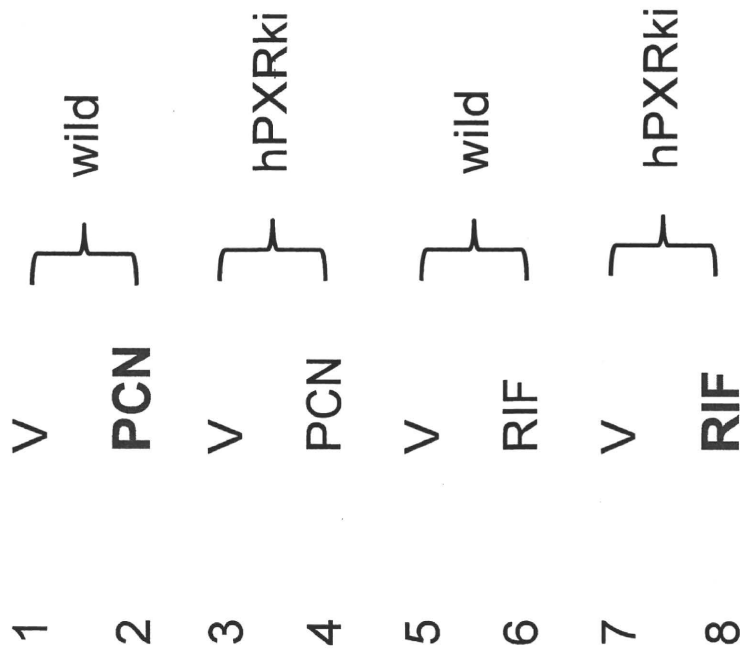
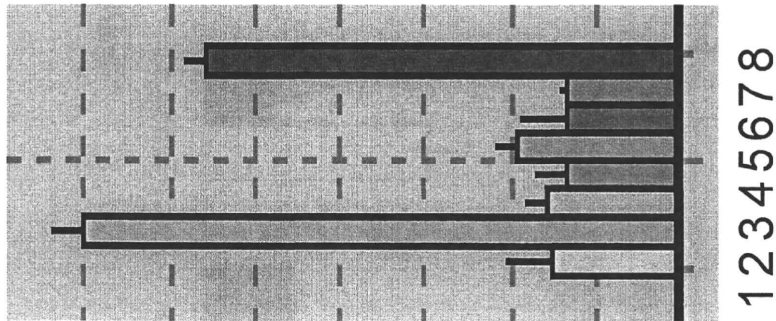
RIF



Small Intestine: CES6

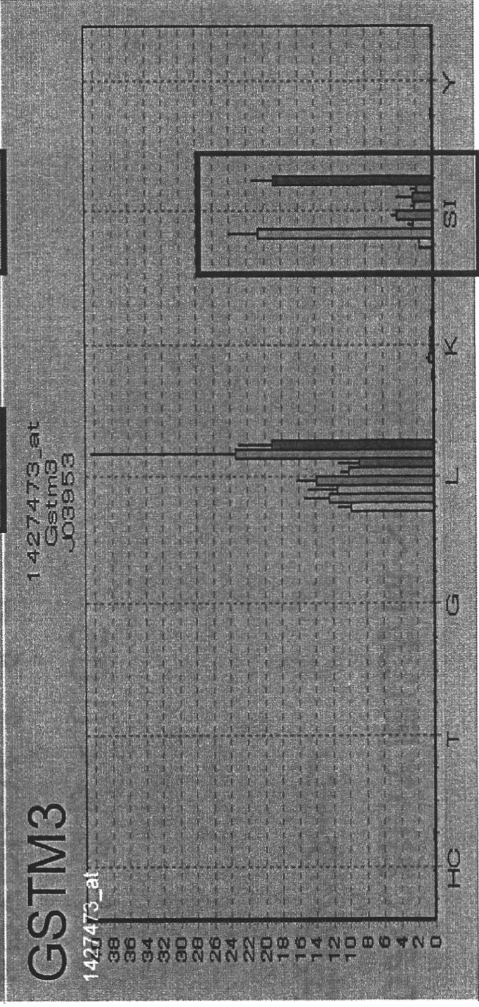
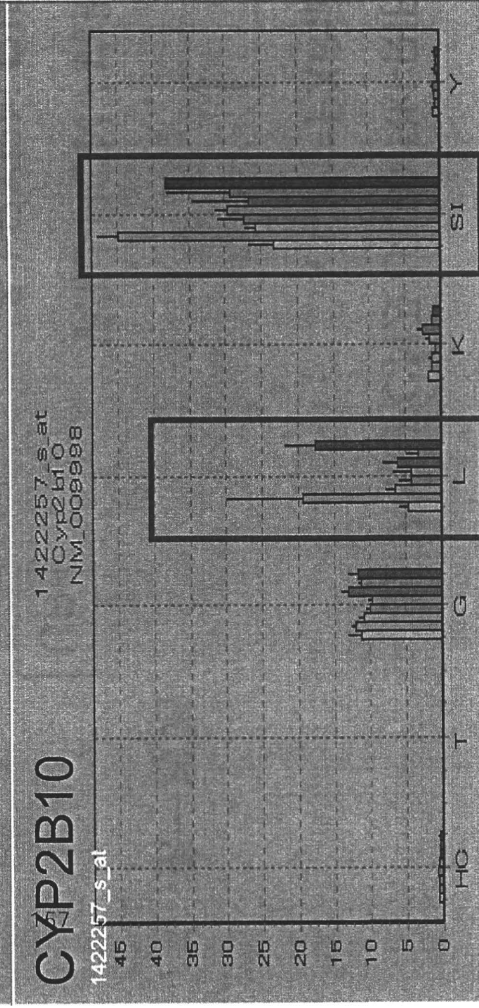
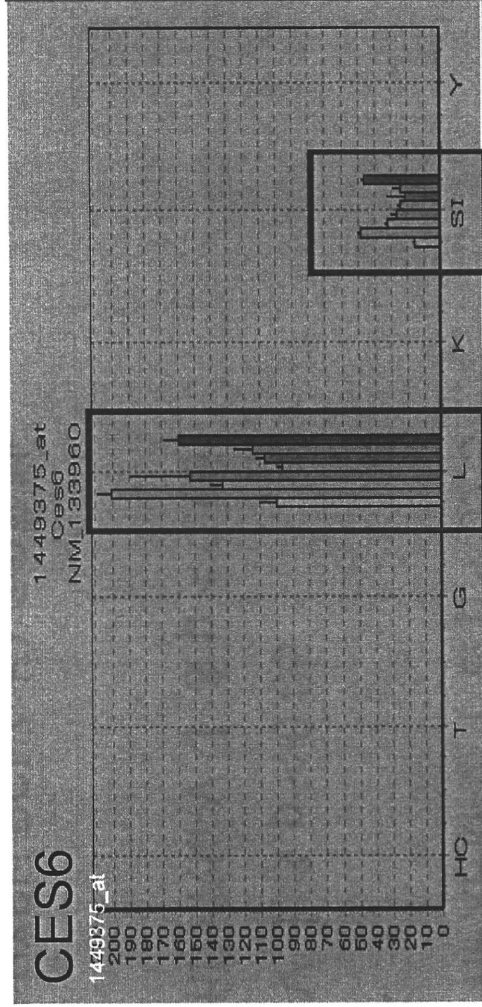
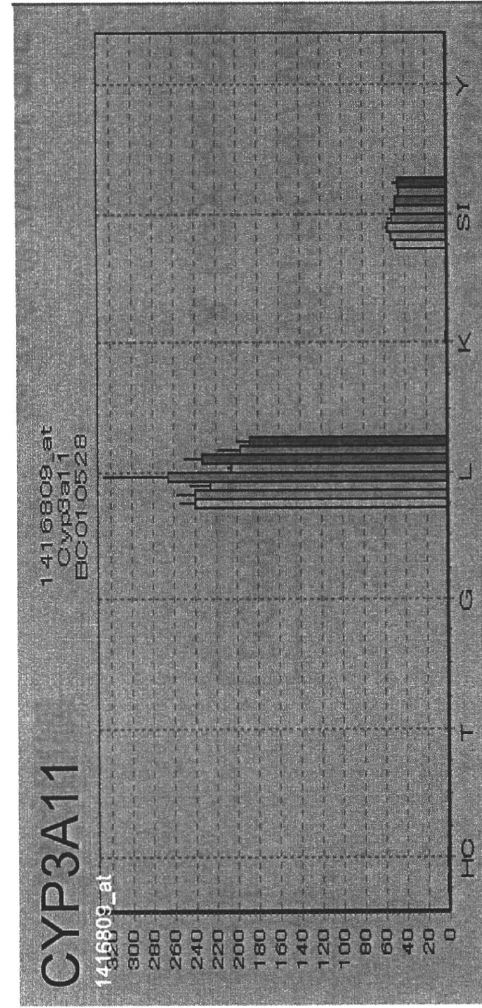


PXR活性化パターン発現変化



Wild-PCN及びhPXRki-RIFのみにおいて同じ方向への変化
 =PXR活性化パターン

7臓器におけるPXR標的遺伝子の反応



CES6, CYP2B10は肝(L)、小腸(SI)ともにPXR活性化に伴う発現上昇を示した。
 GSTM3は小腸(SI)でのみ、PXR活性化に伴う発現上昇。
 CYP3A11は発現上昇を捉えられていない(定量PCRでは検出)。

PXR活性化パターン発現変化を示す遺伝子の抽出

Wild-PCN及びhPXRki-RIFのみにおいて同じ方向への変化

=PXR活性化パターン



第一段階

UP

Wild-PCN / Wild-V ↑ & p < 0.05
& hPXRki-RIF/ hPXRki-V ↑ & p < 0.05

または

DOWN

Wild-PCN / Wild-V ↓ & p < 0.05
& hPXRki-RIF/ hPXRki-V ↓ & p < 0.05

第二段階

他の条件(Wild-RIFやhPXRki-PCNなど)での変動が小さいものに絞り込む

PXR活性化パターン発現変化候補プローブセット数

Tissue	UP	DOWN
HC	29	13
T	22	15
G	5	110
L	122	246
K	2	318
SI	707	1
Y	10	4

他の条件 (Wild-RIFやhPXRki-PCNなど) での変動の程度を調べ、さらに絞り込む必要がある

良く知られた標的臓器である肝(L)、小腸(SI)で変動プローブセット数が多い