

201035012A

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究
—網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と
毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発—
(H21-化学-一般-001)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 菅野 純

平成 23(2011)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究
—網羅的定量的大規模トキシコゲノクスデータベースの維持・拡充と
毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発—
(H21-化学-一般-001)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 菅野 純

平成 23(2011)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究
—網羅的定量的大規模トキシゲノミクスデータベースの維持・拡充と
毒性予測評価システムの実用化の為のインフォマティクス技術開発—

(H21-化学-一般-001)

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 菅野 純

平成 23(2011)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書	
化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究	
ー網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と	
毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発ー	
菅野 純 1
II. 分担研究報告書	
1. 既構築 Percellome データベース解析ー特定の分子標的を共有する化学物質群	
のデータと既知情報からの局所カスケードの描出ー	
菅野 純 19
2. インフォマティクス開発研究	
北野 宏明 61
3. 胎児・ES 細胞データをモデルとした遺伝子ネットワーク描出研究	
北嶋 聡 87
4. Percellome データ解析ツールの開発研究	
相崎 健一 145
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 167
IV. 研究成果の刊行物・別刷 169

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)

総括研究報告書

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究
—網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と
毒性予測評価システムの実用化の為にインフォマティクス技術開発—
(H21-化学—一般-001)

研究代表者 菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部 部長

研究要旨

本研究は、先行実施された化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクス研究の成果を受け継ぎ拡充しつつ、毒性分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの実用化の最終段階としてのインフォマティクス技術を開発することを目的とする。

先行研究において独自開発したパーセローム (Percellome) 法*により、定量的、高精度、且つ網羅的な遺伝子発現プロファイルを約100化学物質について構築し、相崎研究分担者による解析プログラムの開発、(株)NTTデータ及び日本テラデータ(株)との協同委託研究により、5テラバイト級研究計算サーバーを含むインフォマティクス基盤の構築、特に生物学的に有意な遺伝子発現変動を効率的に網羅抽出する方法の開発をほぼ完了した。

本研究では、網羅的発現変動遺伝子情報から、毒性に関わる遺伝子ネットワークを描出するインフォマティクスの開発を実施する。これには、更なる高度な知識と技術を要するが、今までのトキシコゲノミクスが「関連した遺伝子のリスト」や「バイオマーカー」等の静止画的な情報しか提供しない状況を打破し、「どのネットワークが反応すると、どのような毒性と直結するか」という時間的要素を含む動的な因果関係を導き出し、遺伝子発現情報からの毒性予測の精度を格段に向上させる。

具体的には、(1)核内受容体シグナルをモデルとして、特定の標的を共有する化学物質のデータと既知情報から局所の遺伝子発現ネットワーク描出、(2)既知情報からの遺伝子発現ネットワーク・テンプレート生成、(3)複数の化学物質の発現クラスタの同期点からの遺伝子発現ネットワーク描出、(4)胎児、ES・胚様体 (EB) 分化系、及び概日変動など自律的な遺伝

子発現ネットワークの描出、(5) ベイジアンネットワーク等のアルゴリズムの複合適応による初期反応遺伝子発現ネットワークの描出、の 5 つのアプローチから段階的に技術開発を行う。

加えて、遺伝子欠失マウス等による実験と遺伝子発現データの採取を行い、検証研究に供するとともに、データベースとインフォマティクスとの統合を目指す。

*mRNA 発現値を細胞 1 個当たりの平均コピー数として絶対定量する方法。論文発表および特許取得済み。

研究分担者

北野 宏明 特定非営利活動法人
システム・バイオロジー研究
機構 会長
北嶋 聡 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
毒性部 第 5 室長
相崎 健一 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
毒性部 第 2 室長

また本研究は「毒性学の精度向上と近代化」に資するものである。すなわち、数万種に及ぶと言われる身の回りの化学物質の毒性評価は、実験動物の所見を人に外挿する事によって実施され、種差や個体差は「安全係数」或は「不確実係数」により、量的な安全マージンをとる事で勘案されてきた。しかしサリドマイドに代表されるが如く、この方法論には科学的な限界がある。そこで従来法に加え、網羅的遺伝子発現プロファイリングからなるトキシコゲノミクスと、それを活用するインフォマティクスの構築・活用が有効であることは内外の研究の方向性が示すところであり、本研究は、トキシコゲノミクス・インフォマティクスを取り入れた、より高度且つ正確な毒性評価の実現によって、国民生活の安全確保をより確実にすることを期している。

A. 研究目的

本研究は、分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの実用化の最終段階として、関連遺伝子ネットワーク描出の為のインフォマティクス開発を目的とする。

具体的には、先行研究にて構築済みの延べ 3.5 億遺伝子情報からなるトキシコゲノミクスデータベース及び毒性学的意味付けを網羅的に抽出するプログラム群の開発及び実装の実績を基盤に、バイオインフォマティクスの専門家の参加を得て、「毒性と直結したネットワークの反応」を導き出すことを可能にするネットワーク描出技術の開発と、これを用いた毒性予測評価システムの実用化を目指す。

B. 研究方法

1. Percellome 法による高精度の網羅的遺伝子発現量測定

Percellome 法 (Kanno et al. BMC Genomics, 7, 64, 2006 / 特許第 4415079 号) は細胞 1 個当たりの mRNA コピー数として発現値を得る方法である。具体的にはサンプル破

碎液中の DNA 含量から細胞数を求め、濃度の異なる複数の外部標準 RNA (スパイク RNA) を細胞 1 個当たり決まった分子数だけその破碎液に添加してから、RNA 抽出、マイクロアレイ測定を行う。スパイク RNA の測定値が細胞 1 個当たり何コピーに由来するかが既知であることを利用し、サンプル中の全ての RNA 測定値を、細胞 1 個当たりのコピー数に換算する。

これを基礎に、体内に侵入してきた化学物質等に対する初期応答を網羅的に観測すべく、主として成獣マウスの肝を対象とした単回経口投与実験プロジェクトを行った。mRNA 合成のスピードと動物実験の手技上の現実的限界を考慮し、単回強制経口投与の 2、4、8、及び 24 時間後にサンプリングを行うプロトコルを設定した。また、用量依存性を考慮し、投与量を溶媒対象 (0)、 $\times 1$ 、 $\times \sqrt{10}$ 、及び $\times 10$ とした 4 群を設定した。これにより、一化合物につき 4 時点 $\times 4$ 用量の 16 群、各群 3 匹、合計 48 匹の実験を行う。マイクロアレイは Affymetrix 社 GeneChip Mouse430 2.0 を用いた。サンプルはプールせず、個体毎に測定した。

また本研究において実施する動物実験は、野生型マウスを用いた実験だけでは見いだせない毒性シグナルの詳細を検討する目的で、p53 やダイオキシン受容体 (AhR) 等の重要な遺伝子を改変したマウスを用いた網羅的遺伝子発現量測定に重点的をおく。

2. 網羅的な遺伝子発現量データの基本情報処理

Percellome 法を適用し、過去 2 期にわたって実施したトキシコゲノミクス研究によ

り、延べ 3.5 億遺伝子情報からなる高精度、且つ網羅的なトキシコゲノミクスデータベース (Percellome データベース) を構築した。このデータベースは情報量に富む 3 次元データ (時間、暴露用量、遺伝子発現量) よりなることから、解析には、数値を生物学者によるデータ確認が容易な 3 次元波動面に変換した上で特徴抽出を行うという独創的な方法を採用した。解析に用いるアルゴリズム及びソフトウェア群は全て独自に開発し (Aisaki et al. Exp Hematol. 35, 1190, 2007, Matsumoto et al, Genome Inform. 16, 183, 2005. 一部は特許取得済)、汎用 (市販製品を含む) のものでは得られない有効性を発揮している。

またマイクロアレイデータ補正や発現類似度計算等の高度解析アルゴリズムの実装と検証実験は、今までのノウハウを活かして引き続き (株) NTT データ及び日本テラデータ (株) との協同委託研究により、演算空間 5 テラバイト級の研究計算サーバーを用いて実施する。

3. 遺伝子発現ネットワークの描出処理の検討

Percellome データや既知情報を元に、代表的な遺伝子発現ネットワークの描出を行いつつ、解析やネットワーク化の手法開発および問題点の抽出を行う。

3. 1 特定の分子標的を共有する化学物質群が誘導する遺伝子発現ネットワークの描出

ダイオキシン類や核内受容体リガンドを対象として、Percellome データと該当化学物質の既知情報から、特定の分子標的に関

連するネットワークの抽出を試みる。特に、細部の抽出においては、遺伝子改変マウスにおけるトキシゲノミクス実験データを参照する。

3. 2 胎児・ES 細胞での発生過程や概日変動等における自律的な遺伝子発現ネットワークの抽出

先行研究において取得済みの、野生型マウス胚およびマウス ES (胚性幹)・EB (胚葉体) 分化系の遺伝子発現データベース、あるいは概日変動リズム 1 周期=24 時間の遺伝子発現データベースを利用し、フィードバックループが大きな役割を担う遺伝子発現ネットワークの抽出、およびその処理に必要な手法の開発・検討を行う。

4. 遺伝子発現ネットワーク抽出の為にインフォマティクス開発

4. 1 既知情報からのシグナルネットワーク・テンプレート生成

文献データベース等から毒性反応遺伝子発現ネットワークの骨格を生成するために、米国の OMIM および MGI から遺伝子改変マウスに関する情報を抽出するプロセスをモデルとして、汎用的な骨格生成アルゴリズム開発を行う。

4. 2 複数の化学物質に共通する遺伝子群情報からの毒性シグナルネットワーク抽出

Percellome データベースの約 100 化学物質の情報から、化学物質ごとに実施した tmf 教師無しクラスタリング及び RSort 波動面抽出等の結果から共通情報を抽出し、時間的要素を維持したまま毒性反応シグナルネットワークの構成要員を得る。

4. 3 初期反応ネットワークのインフォマティクス抽出

大規模データから初期反応に関わる発現ネットワークを同定する手法の開発に向け、実データを用いて基本推定手法の最適化を行う。特に、前処理 (フィルタリング) としては遺伝子発現レベルだけでなく、実データの化学物質用量要素や時間要素に対する Slope もしくは Wavelet フィルタ及び独自のクラスタリングプログラム (AGCT: A Gene Clustering Tool、ネットワーク抽出への応用を前提に開発を進めている。遺伝子発現の経時的変化に重点を置いた自動クラスタリング・可視化技術) の最適化によって、効率的なネットワーク抽出を実現する。

(倫理面への配慮)

動物実験の計画及び実施に際しては、科学のおよび動物愛護的配慮を十分行い、所属の研究機関が定める動物実験に関する指針のある場合は、その指針を遵守している。

(国立医薬品食品衛生研究所は国立医薬品食品衛生研究所・動物実験委員会の制定になる国立医薬品食品衛生研究所・動物実験の適正な実施に関する規程 (平成 19 年 4 月版) 及び国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子組換え実験安全管理規則の承認を受けて行う。)

C. 研究成果

平成 22 年度は当初計画に沿って 5 研究を行い、下記の成果を得た。

(1) 特定の分子標的を共有する化学物質群のデータと既知情報からの局所の遺

伝子発現ネットワーク描出 (菅野・北嶋)

AhRホモ欠失マウス (国立医薬品食品衛生研究所にて60代以上C57BL/6にBackcross済)にてPercellome遺伝子発現データを取得し、野生型マウスにおけるデータとの比較・差分解析を参考に、AhRシグナルの局所の遺伝子発現ネットワーク描出を進めた。今年度(平成22年度)は、ダイオキシン受容体(AhR)シグナルのネットワークの検証の為に、AhR欠失マウスに、AhRのリガンドである3-メチルコラントレン(3MC)(0、10、30、100 mg/kg)を単回経口投与(4用量、16群構成、各群3匹)し、投与2、4、8及び24時間後の肝サンプルにつき網羅的遺伝子発現データを解析した。またこの結果を、既に取得済みの、野生型マウスに3MCを同様の条件にて投与した際の遺伝子発現変動の経時データベースと比較検討した。野生型マウスでは3MCの投与により、AhRシグナル関連遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子をはじめとして多くの遺伝子発現変動が認められた。生物学的な発現変動が示唆された遺伝子として685ps(増加:659ps、減少26ps)が見いだされた。これと比較し、AhR欠失マウスでは、3MCの投与により変動した遺伝子では特定のシグナルネットワークは見いだせず、変動する遺伝子数も少なく、また発現の変動幅も狭いものであった。具体的には生物学的な発現変動が示唆された遺伝子として216ps(増加:172ps、減少44ps)が見いだされた。また両者に共通して発現変動が認められた遺伝子数は11psであった。AhRの活性化に伴い、3MCを代謝する薬物代謝酵素

の誘導が生じる。したがって、AhR欠失マウスでは3MCの代謝が引き起されないことを考慮する必要があるが、AhRシグナルに関連すると考えられる遺伝子の多くはAhR欠失マウスにて発現変動が著しく抑制されたため、その関連遺伝子である事が再確認されたと共に、野生型及びAhR欠失マウスの両方で発現変動を示した少なくとも11psの遺伝子については、3MC投与の際、AhRを介さない経路で発現変動するものであることが明らかとなった。

さらに3MCと同様に、2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン(TCDD)についてもAhRホモ欠失マウスに投与し、網羅的遺伝子発現データを得て、3MCデータと比較解析して候補遺伝子リストの検証を行い、3MCの作用のうち、AhRと3MC活性化体の直下の分離を可能にする基礎データが得られた。また、最終年度にエストロゲン受容体を介したネットワークのPercellome解析を行うために、エストロゲン・受容体(ER α)遺伝子改変マウスの繁殖を進め、12週齢の雄48匹を使用するエストロゲン様活性化化合物のPercellome解析の準備を進めた。

(2) 既知情報からの遺伝子発現ネットワーク・テンプレート生成 (菅野・相崎)

文献データベース等から毒性反応遺伝子発現ネットワークの骨格を生成するために、米国NCBIのOMIMデータベース(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)および米国Jackson LaboratoryのMGIデータベース(<http://www.informatics.jax.org/>)から遺伝子改変マウスに関する

る情報の抽出プロセスをモデルとして、引き続きアルゴリズム開発を進めた。またこの過程で得られたアノテーション情報は直ちに解析用のナレッジデータベースに追加し、実用に供した。

この過程を参考にして同様に、米国NCBI PubMed等でも利用している米国NLM管理下の専門語彙集MeSHの遺伝子改変技術や疾病等を含む表現型に関する語彙の抽出を開始した。

(3) 複数の化学物質のクラスタ交叉点からの遺伝子発現ネットワーク描出 (相崎・菅野)

特徴的な発現を示す遺伝子をその3次元曲面パターンを用いて自動抽出する独自アルゴリズムRSortの改良を進め抽出効率・精度を向上させたほか、これを応用した共通変動遺伝子の高速抽出・評価用の解析プログラムPercellome Explorerを開発した。本プログラムにより、Percellomeデータベースの全データを対象とした化学物質暴露影響の比較解析が容易に実施できるようになり、遺伝子発現ネットワーク研究の効率が飛躍的に向上した。

試験運用を兼ねてPercellomeExplorerの活用を開始した。化学物質による暴露影響の類似性解析を行い、例えばアセフェートによる遺伝子発現誘導とデヒドロ酢酸ナトリウムによる遺伝子発現誘導とに共通点が多いことを見いだしたほか、GO情報を元に生成した候補遺伝子リスト、例えばトランスポゾン関連遺伝子リストをクエリとしてPercellomeデータベース

内を検索し、ホルムアルデヒドやアセフェート、デキサメサゾン、MEHP、ディート、クロルピリフォス等に反応して発現していることを見いだすなど、有効に機能することを確認した。

また毒性反応シグナルネットワークの主要素抽出精度を向上すべく、データ補正技術MLANG (論文投稿準備中) およびその拡張技術 (特許出願済み) を開発した ((株) NTTデータ及び日本テラデータ(株) との共同委託研究による)。これにより、プローブ飽和現象やクロスハイブリダイゼーションに起因する計測誤差が格段に小さくなり、クラスタリングや発現誘導パターンによる化学物質分類、同期発現遺伝子検索等の精度が向上すると期待された。

(4) 胎児、ES細胞、概日変動等の自律的な遺伝子発現ネットワーク描出 (北嶋)

先年度に実施した胎児・ES細胞の発生過程におけるカスケード解析に引き続き、今年度は、成熟期マウスの肝および視交叉上核 (SCN) サンプル由来の概日変動リズム1周期 (=24時間、Time point: 7点=4時間毎) に渡る網羅的トランスクリプトームデータを用い、概日変動リズム遺伝子のひとつDbp遺伝子について局所ネットワークの描出を検討した。ピアソン相関係数を利用し (α 値0.9以上) Dbp遺伝子の発現と同様な遺伝子を抽出、さらに目視による検討により生物学的な変化が示唆されたものとして、肝では81プローブセット (ps) (64遺伝子)、SCNでは44ps (39遺伝子) の遺伝子リストが得ら

れた。このうち、概日リズムとの関連が既知の遺伝子は肝では6遺伝子、SCNでは4遺伝子であり、ほとんどが概日リズムとの関連が未報告の遺伝子であった。また、Nr1d2遺伝子 (Rev-ErbA beta) のみ両遺伝子リストに共通していた。両リストにつき *in silico*でのプロモーター解析を検討したところ、肝ではKLFの、SCNではEGR family、ETS1及びKLFの結合配列が見いだされ、Dbp遺伝子の関与する局所ネットワークの発現制御は肝とSCNでは異なるが、KLFが関与する制御は共通である事が示唆された。

加えて、当毒性部が所有する100化合物を超えるPercellomeデータベースを利用し、肝においてDbp遺伝子の発現を抑制する化学物質の探索を経て、その際の経時データベースを活用する事で、抽出した遺伝子リストの妥当性を示す事ができた。肝においてDbp遺伝子の発現を特に強く抑制する化学物質は、化審法での所謂白物質である2-クロロ-4,6-ジメチルアニリン[0、3、10、30mg/kg]、有機リン系殺虫剤であるアセフェート[0、7、20、70mg/kg]及び、食品添加物の保存料であるデヒドロ酢酸ナトリウム[0、30、100、300mg/kg]の3化合物であった。

(5) ベイジアンネットワーク等のアルゴリズムの複合適応による初期反応遺伝子発現ネットワークの描出 (北野)

大規模データから初期反応に関わる発現ネットワークを同定する手法の開発に向け、H21年度実績を基盤に大量の実データを用いて、独自のクラスタリング技術 (AGCT)

など基本推定手法及びこれを実装した解析ソフトウェアの拡張と最適化を行った。TCDD 暴露データおよび TCDF 暴露データから検出したネットワーク要素を既知情報に照らし合わせた結果、本手法では70%以上の感度を期待できることが分った。併せて、クラスタリングデータを元にしたインターラクティブ抽出とネットワークの自動描画も試み、良好な結果を得た。

(6) その他

研究成果の速やかな社会還元と、国際的な共同研究の活性化を目的として、研究進捗に対応した新たなアルゴリズムに対応できなくなった既存の研究情報公開サイトに代え、新たなWebサーバーの構築とWebアプリケーションPercellomeWebのin house開発を行って、後継のサービスサイトを開設した (<http://percellome.nihs.go.jp>)。

またマイクロアレイよりも高精度かつ詳細なトランスクリプトーム解析を実現すると期待されている、次世代シーケンサを用いたRNAseq技術の性能評価を開始し、基本的には厳密性を要求するトキシコゲノミクスでも利用可能な性能水準に近づきつつあり、Percellome手法の適用も不可能ではないと推測されたが、本格的な採用のためには数値化アルゴリズムなどにいくつかの解決すべき問題があることを確認した。

D. 考察

遺伝子発現データの解析の一般的なアプローチとして、しばしば Phenotypic

anchoring (観測される病理形態学的変化への関連付け)に基づくバイオマーカー検索が行われるが、バイオマーカーという局所的变化のみを観察する結果生じる網羅性の欠如と見落としのリスクの増大や、生体変化の最終的結果である病理形態との関連性に基づくための限界、すなわち初期応答情報への対応の困難さと毒性予測性能の低さが常に指摘されている。

これに対して、我々が提唱する毒性ネットワークに基づく毒性評価・予測技術は、初期～最終応答情報を包含する幅広い適応性能および、明確な関連性が不明の「点」(バイオマーカー)ではなく複数の線から成る「網」(ネットワーク)で生体反応を捉えることによって、格段の高感度性、頑強性及び網羅性が期待できることが示されつつある。

本研究はほぼ計画に沿って進行しており、今年度までに生成したアルゴリズム・解析プログラムにより、化学物質による遺伝子発現反応の総当たり評価が、100余の化学物質の情報からなる高精度トキシコゲノミクスデータベース (Percellome データベース)の全てを対象とし、尚且つ用量および時間的要素を考慮して実施できるようになっている。この基盤技術は、既存化学物質の毒性機序解明ばかりでなく新規化学物質の毒性評価にも応用可能である。類似の発現ネットワークを作動させる化学物質をその類似の程度の順にリストアップする機能を有しており、それにより高感度で危険性を指示する情報を得ることができるなど、既に実用的な性能を有しており、試験的には実際の毒性評価への応用を開始している。

併せてインフォマティクスによるネットワーク構造の自動生成試行実験も順調に進捗しつつある。

また本研究では多数の独自技術を生成しているが、それに固執せず共同研究を展開する柔軟性を維持している。パスウェイデータ構築を企図する研究 (PAYAO) を含む国際的なバイオインフォマティクスプロジェクト (GARUDA) との連携を予定しており、最終年度に向け、研究進捗の飛躍的な加速が期待される。

E. 結論

本研究の目的は、分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの実用化の最終段階として、毒性ネットワーク描出の為にインフォマティクス技術を開発することである。

単純なバイオマーカー抽出に比し、毒性ネットワーク描出には格段に高度な解析技術を必要とし、その実現には大きな困難が伴うが、独自開発による教師無しクラスタリングや、複数の特徴抽出アルゴリズムによる解析技術の併用といった今年度までの研究成果によって、アーティファクト回避と網羅性維持を確保しつつ、生物学的意味を持つ遺伝子発現変動のハイスループット抽出を中心とした解析技術の開発に目処がついた。

これら技術の利用により、既にネットワークの要員遺伝子の抽出が時間的要素を維持したままで可能となっており、このアプローチによるネットワーク描出の糸口が次々に得られている。現在、これらの要員遺伝子の連結作業を加速する手段としての

インフォマティクス研究を本格的に開始しており、最終的には網羅的な毒性ネットワークの生成技術が開発可能と見込まれる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yoshida T, Sekine T, Aisaki K, Mikami T, Kanno J, Okayasu I., CITED2 is activated in ulcerative colitis and induces p53-dependent apoptosis in response to butyric acid., *J Gastroenterol* 2011 46(3): 339-49.

Arase S, Ishii K, Igarashi K, Aisaki K, Yoshio Y, Matsushima A, Shimohigashi Y, Arima K, Kanno J, Sugimura Y., Endocrine Disrupter Bisphenol A Increases In Situ Estrogen Production in the Mouse Urogenital Sinus., *Biol Reprod.* 2011 84(4):734-42.

T Oginuma M, Takahashi Y, Kitajima S, Kiso M, Kanno J, Kimura A and Saga Y, The oscillation of Notch activation, but not its boundary, is required for somite border formation and rostral-caudal patterning within a somite. *Development* 2011 137: 1515-1522

Atsushi Baba, Fumiaki Ohtake, Yosuke Okuno, Kenichi Yokota, Maiko Okada,

Yuuki Imai, Min Ni, Clifford A Meyer, Katsuhide Igarashi, Jun Kanno, Myles Brown, and Shigeaki Kato, Signal-sensing activation of a histone lysine demethylase complex, *Nature Cell Biology*, accepted 2011.3

菅野 純、Percellome トキシコゲノミクスの進捗、医学のあゆみ 医歯薬出版株式会社 Vol.236 no.12, p1125-1126, 2011

Matsuoka, Y.; Ghosh, S.; Kikuchi, N.; Kitano, H. Payao - A Community Platform for Pathway Model Curation. *Bioinformatics.* 26(10), 1381-1383, 2010.

Kitano, H. Grand challenges in systems physiology. *Frontiers in Systems Physiology.* 1(3), doi: 10.3389/fphys.2010.00003, 2010.

Kitano, H. Violations of robustness trade-offs. *Molecular Systems Biology.* 6(384), doi:10.1038/msb.2010.40, 2010.

Shiraishi, T.; Matsuyama, S.; Kitano, H. Large-Scale Analysis of Network Bistability for Human Cancers. *PLoS Computational Biology.* 6(7), e1000851. doi:10.1371/journal.pcbi.1000851, 2010.

Ghosh, S.; Matsuoka, Y.; Kitano, H.
Connecting the dots: role of
standardization and technology sharing
in biological simulation. Drug
Discovery Today. 15, 23/24, 1024-1031,
2010.

2. 学会発表

Jun Kanno, Katsuhide Igarashi, Kentaro
Tanemura, Hirotsugu Asano, Kinichi
Nakashima, Glucocorticoid induces
expression of astrocyte marker GFAP
mRNA in mouse neural stem cells. 14th
International Congress of
Endocrinology (2010. 3. 29) (Kyoto)
poster

Natalia Polouliakh, Jun Kanno, Yukiko
Matsuoka, Ken-Ichi Aisaki, Richard
Nock, Frank Nielsen, Keigo Oka, Satoshi
Kitajima and Hiroaki Kitano, Discovery
of Gene Network Regulated by the
Toxicity Equivalent Factor of
2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin
(TCDD) and 2, 3, 7, 8-Tetrachloro
dibenzofuran (TCDF) chemicals. the
11th International Conference on
System Biology (2010. 10. 11)
(Edinburgh, UK) Poster

菅野 純、相崎健一、北嶋 聡、Percellome
トキシコゲノミクスの抗がん剤研究への
応用、第 69 回日本癌学会学術総会
(2010. 9. 24) (大阪) 口演

北野 宏明、システムバイオロジーによる
毒性オミクスへのアプローチ、第 37 回日
本トキシコロジー学会 学術年会
(2010. 6. 16) (沖縄) 口演

北嶋 聡、菅野 純 Percellome 発生トキ
シコゲノミクスの進捗、第 37 回日本トキ
シコロジー学会 学術年会 (2010. 6. 16)
(沖縄) 口演

菅野 純、北嶋 聡、高橋祐次、五十嵐勝
秀、相崎健一 インフォマティクス局面
にある Percellome トキシコゲノミクス
の食品・食品添加物への適用、第 37 回日
本トキシコロジー学会 学術年会
(2010. 6. 16) (沖縄) 口演

高木篤也、北嶋 聡、五十嵐勝秀、相崎 健
一、江馬 眞、菅野 純 Percellome 手法
を用いた TCDD 投与マウスの胎児口蓋の遺
伝子発現解析(3)、第 37 回日本トキシコ
ロジー学会 学術年会(2010. 6. 17) (沖縄)
口演

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を
含む。)

1. 特許取得

(1) 特許出願 2010 年 12 月、「競合的ハ
イブリダイゼーションにおける遺伝
子データの補正方法及び補正装置」

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

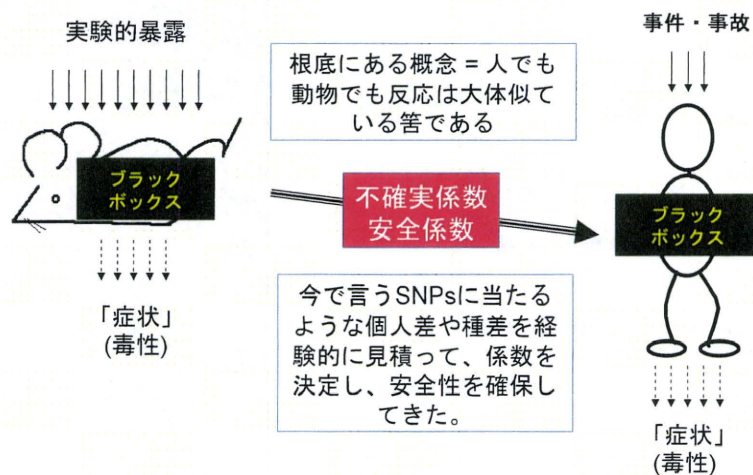
化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究

— 網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と毒性予測評価システムの実用化の為に
インフォマティクス技術開発 —
(H21-化学-一般-001)

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
毒性部
菅野 純

半数致死量(LD₅₀)や安全係数(不確実係数)からの毒性学の近代化

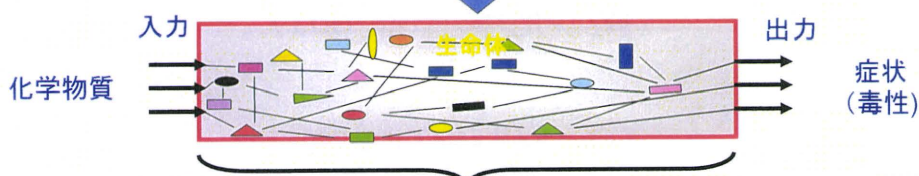
魔法の数字「安全係数」をいつまでも使い続けるのか？
サリドマイド問題のような事例の回避



形質非依存的なアプローチの必要性
Phenotype-Independent approach



生体反応の分子メカニズムの解明による毒性学の近代化



全遺伝子の発現情報を用いたカスケードデータベースの構築

すべての遺伝子カスケードが形質発現を伴う訳ではない

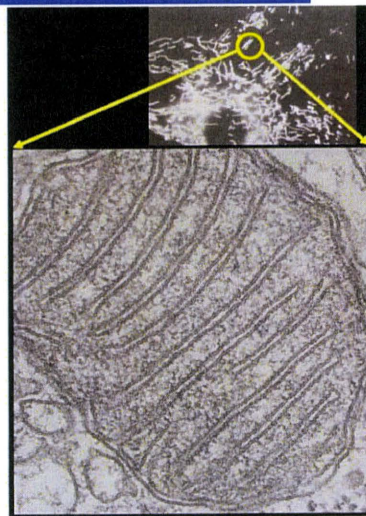
トキシゲノミクスは現行毒性学にとって、光学顕微鏡しかない時代に現れた電子顕微鏡のようなもの。
その実用化には、皆が納得する「教科書」が必要。

電子顕微鏡の教科書や図譜が出来るまでに、10~20年。研究者が多数の電子顕微鏡写真をアーカイブ化した。

トキシゲノミクスは、電子顕微鏡のような立場。多数のデータを基に、「教科書」を書く必要がある。

データを蓄積するには、標準化が必須。
→Percollome法を開発した。

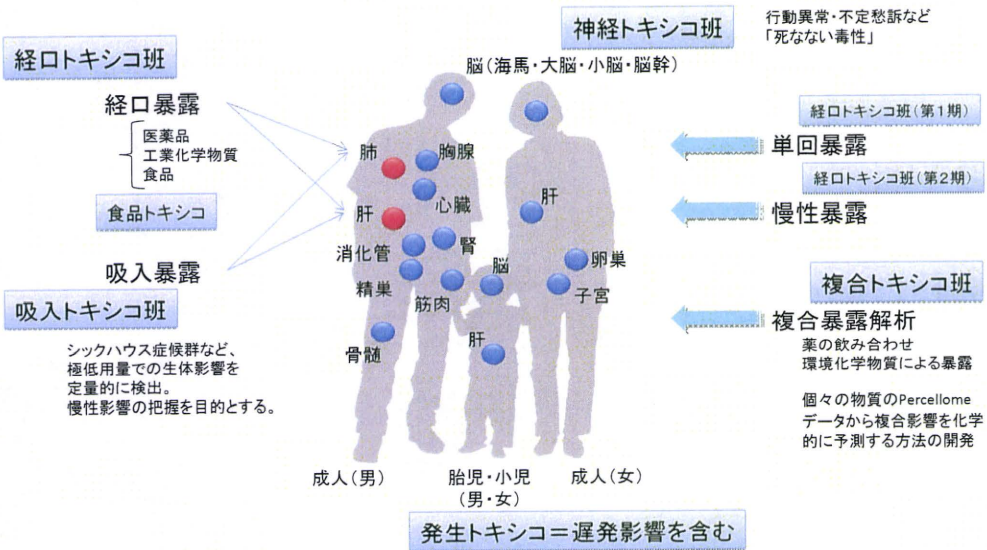
↓
数万種類のmRNAの各々を、細胞一個当たりのコピー数として測定。





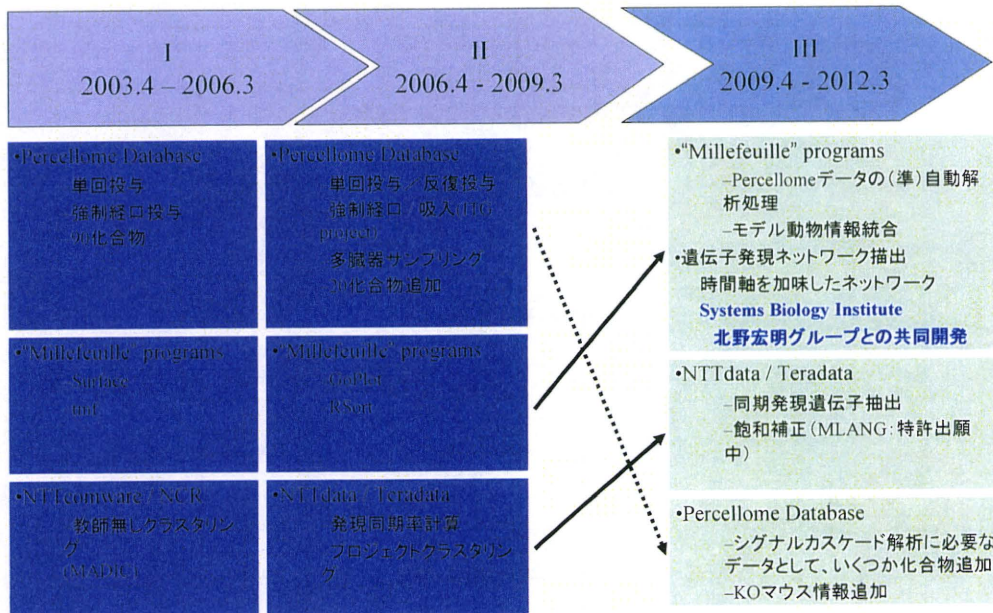
Percellome Toxicogenomics データベース

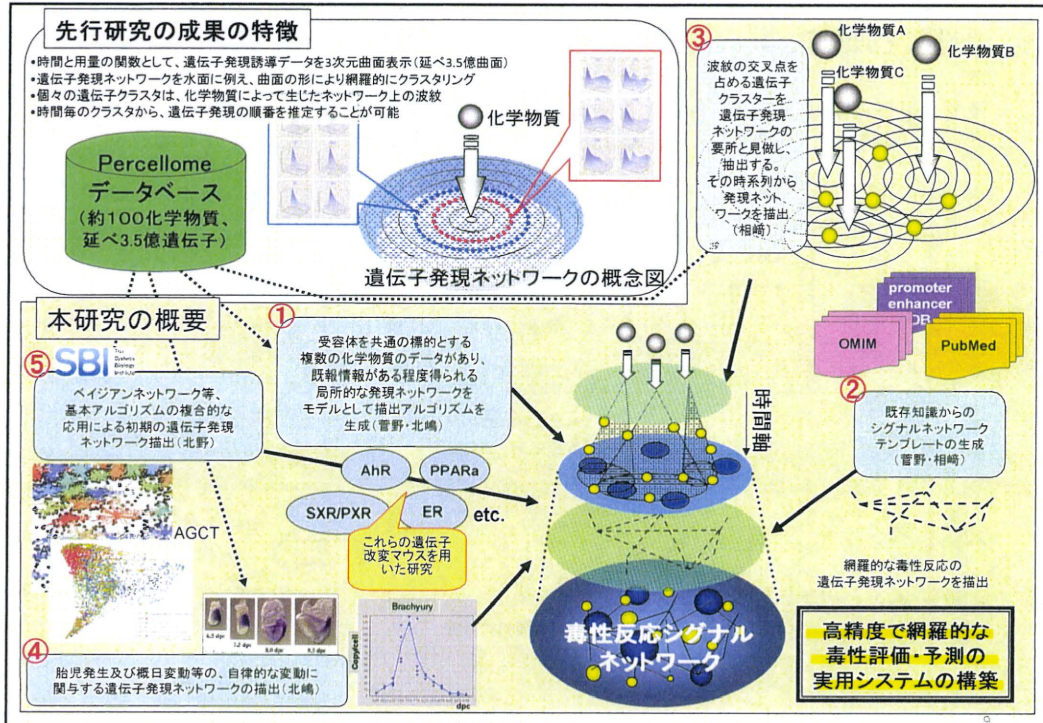
～ 毒性ネットワークの解明と高精度の毒性評価・予測のための基盤データベース ～



Percellome Toxicogenomics Project (第3期)

厚生労働科 研費





解析技術の向上(独自開発)

- 網羅性の確保法の完成(3次元曲面解析)
 - ソフトウェア: RSort
 - 教師無しクラスタリングシステム
- 有意性確認の向上
 - MF Analyzer / MF Surface
 - T-Test, Fx line

