

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. 他のオミクス技術の併用・・・有望か?
8. 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

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

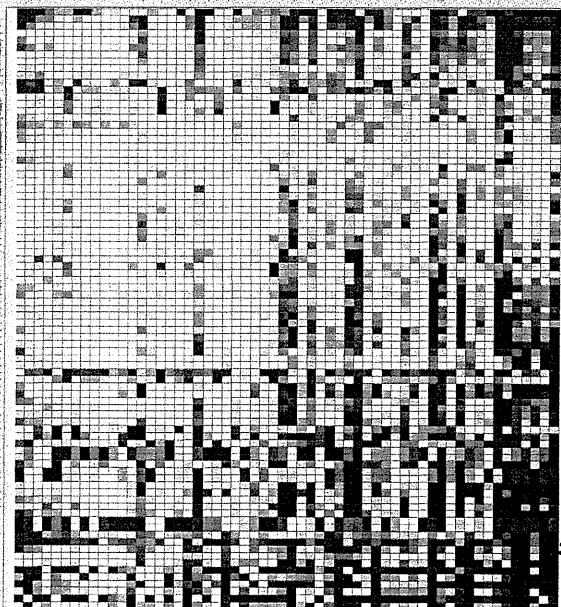
創薬研究者が新薬候補のプロファイルを総合的に理解できること

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 Posi-Nega
uehara_033AM_H_welch0.05_fold1.5_down_15and29D
mat_lipidosis_down_050427
TAA Single Pearson minus less 0.6

PPARαSpecific Gene
Sig Gene Cellular Infiltration & ALT 24H Posi-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 PPARα single24h
Hamp
Tamura PPARα SigGene

→ i-compass (レベルⅢマーカー)

機能既知遺伝子リスト



化合物についてリストごとにスコア化



レーダーチャートで表示

ABC_transporter AP1 Acot Akr Apolipoprotein Aurk Bcl Carcinogenesis
Caspase Cebp Cell_proliferation Chemokine Cholesterol_synthesis Choline
Collagen Complement Creatine Cyclin Cyp*.* DNA_damage ER_stress Fgf
Fmo GSH Glycolysis Gpx Gst Hsp Hypoxia IL_receptor Igf Inflammation
Interleukin Ketone_body LXR Ldlr Lipogenesis MMP Metallothioneine
Methylation Misc_GF Mt_b-oxidation Mt_electron Mt_genome Mt_ribosome
NfκB Organic_cation_transporter Oxidative_stress PDGF PP PPAR
PPAR_target Phorone_GSH_depletion Phospholipid Prolactin Proteasome
Ribosome Slc Slco Steatosis Stellate Steroid_hormone Sterol_related Sult
TGF TGFb TNF Topo Ubiquitin Ugt Vegf

将来的な課題

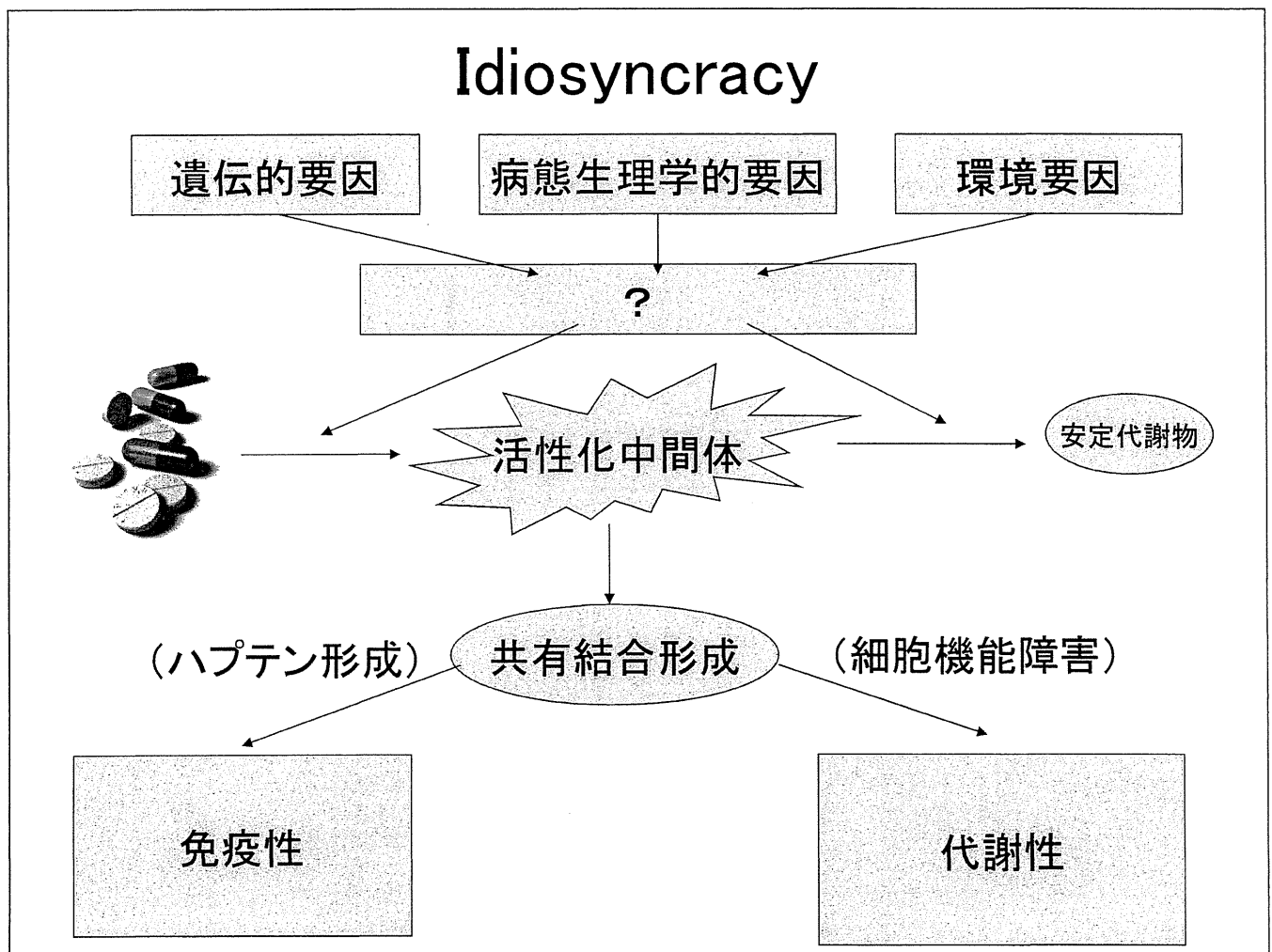
Idiosyncrasy

- ・ Dose independent, unpredictable
- ・ 1/1,000 ~ 1/100,000
Troglitazone, isoniazid, ...

- ・ アレルギー性
adduct 形成の評価

- ・ 代謝性
Troglitazone

TIPS 22(6) 298-305, 2001



Perspectives in Pharmacology

Inflammation and Drug Idiosyncrasy—Is There a Connection?

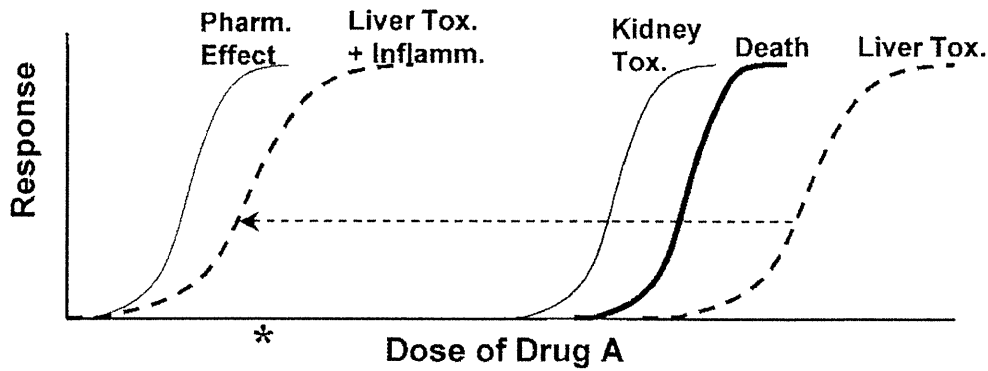
ROBERT A. ROTH, JAMES P. LUYENDYK, JANE F. MADDOX, and PATRICIA E. GANEY

Department of Pharmacology and Toxicology, Institute for Environmental Toxicology, National Food Safety and Toxicology Center, Michigan State University, East Lansing, Michigan

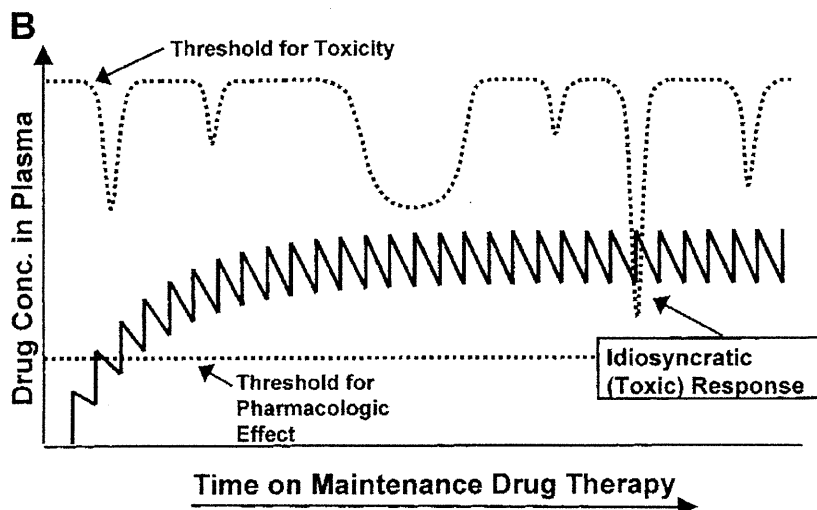
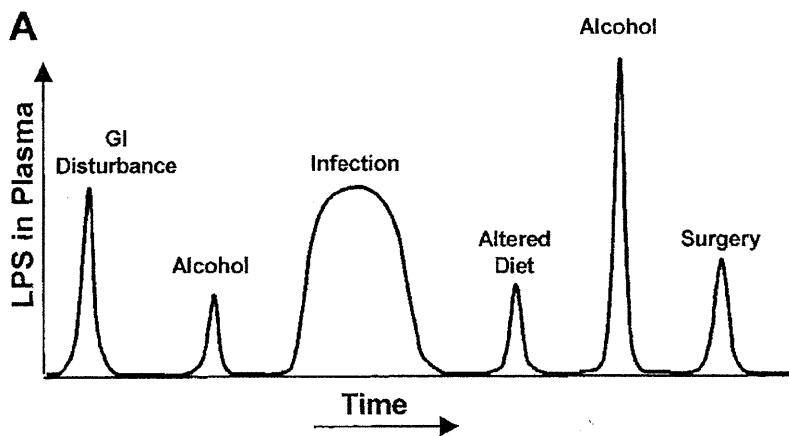
Received June 4, 2003; accepted July 1, 2003

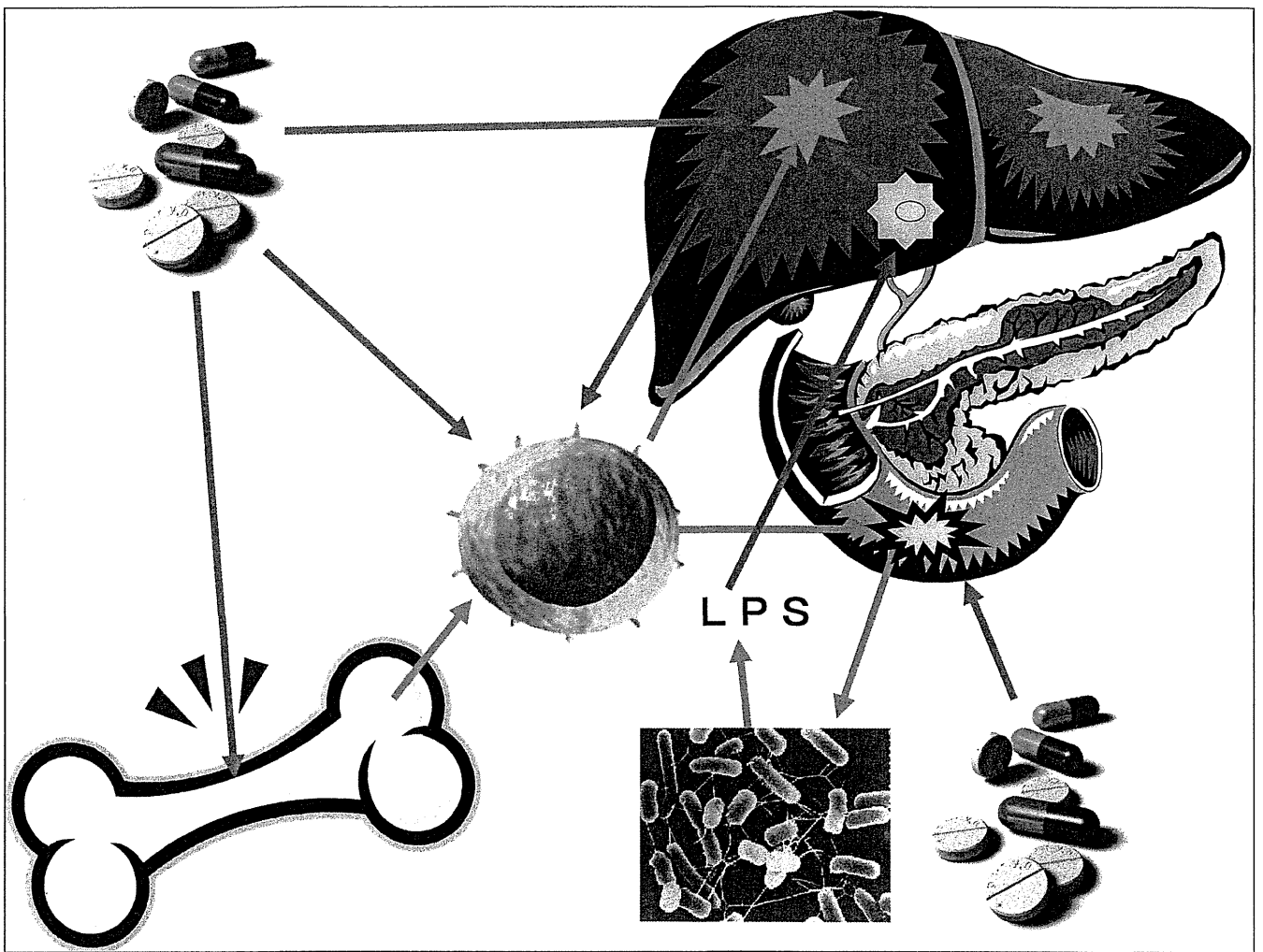
ABSTRACT

“Drug idiosyncrasy occur in a small relationship to dose target for t about mechanisms potheses that the drug metabolism p cific immune respo few drugs does cc mechanisms, how ships that charact the possibility that renders tissues pe



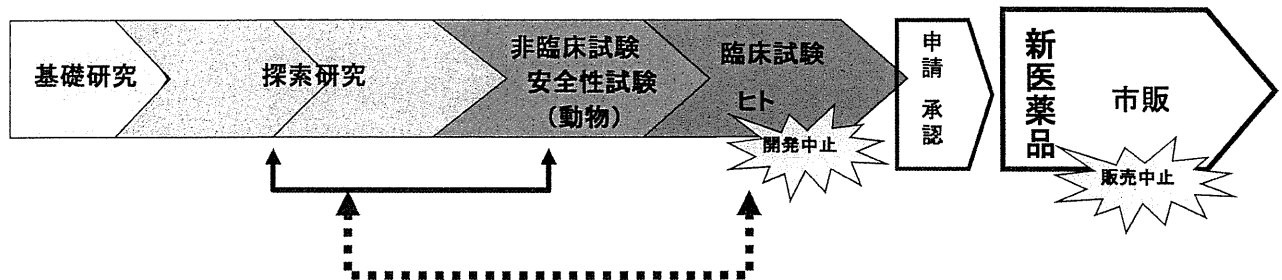
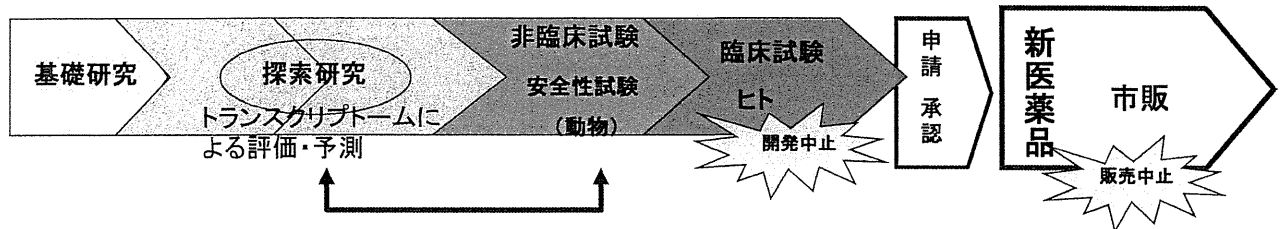
Commonplace als indicate tissue sen- ations have ation during toxicity and eaction that ' response). idiosyncrasy J results of /ledge gaps d be widely





新薬開発の効率化・加速化に向けて

創薬研究 (Critical Path) 9~17年(製薬協)



臨床で起こりうるリスクに対して予め備えておくこと

トキシコゲノミクスプロジェクトの成果

◇特許出願

肝障害検査用バイオマーカー及びそれを用いた肝障害の予測方法（特願2010-136687）

◇第8回産学官連携功労者表彰（日本学術会議会長賞）

◇安全性バイオマーカー36個の創出

◇データベースの公開により全世界の安全性研究者へ貢献

◇毒性データ集の刊行



代表的製薬企業の安全性研究者が一堂に会して新技術を開発したこと

TGP2共同研究体制

- ・ リーダー : 大野泰雄(国立医薬品食品衛生研究所)
- ・ サブリーダー : 漆谷徹郎(基盤研、同志社女子大)
- ・ 基盤研サブリーダー : 山田 弘
- ・ 基盤研顧問 : 奥野恭史(京都大学)
- ・ 医薬基盤研究所: 中津則之、箕輪洋介、五十嵐芳暢
- ・ 国立医薬品食品衛生研究所: 菅野純(分担研究者)、小野敦(WG)
- ・ 同志社女子大学薬学部: 水川裕美子(分担研究者)
- ・ 東京農工大学: 三森国敏(分担研究者)
- ・ 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
- ・ バイオマーカーWG チームリーダー: 小野敦(国衛研)、廣出充洋(武田)、上原健城(塩野義)、中津則之(基盤研)、住田佳代(住友)、堀之内彰(武田)、南圭一(小野)
- ・ 血液ゲノミクスWG: 神吉将之(リーダー・アステラス)、宮本実(サブリーダー・武田)
- ・ バリデーションWG: 矢本敬(リーダー・第一三共)
- ・ 研究支援部門: 矢本敬(第一三共)、新田浩之(小野)、廣出充洋(武田)、上原健城(塩野義)、宇波明(アステラス)、垣内太(エーザイ)



トキシコゲノミクスプロジェクトにおいて構築されたバイオマーカーと医薬品開発における利用について

国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

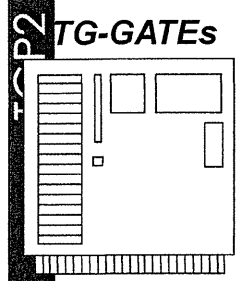
小野 敦

平成23年度 発表会

2012.2.27 日本薬学会長井記念館 長井記念ホール(東京)

TGP2バイオマーカー探索の概要

TGP2 Toxicogenomics Informatics Project in Japan

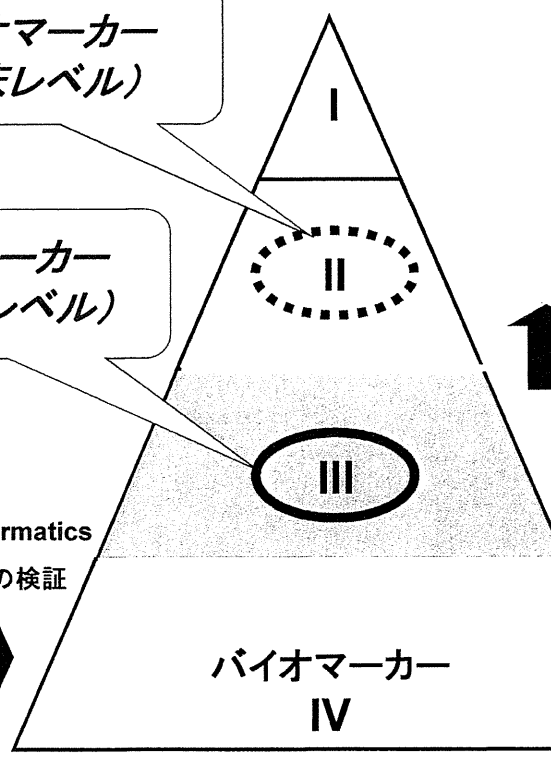


Bioinformatics
PCRでの検証



バイオマーカー
(臨床レベル)

バイオマーカー
(前臨床レベル)



バイオマーカー
IV

III⇒II (項目例):
ヒトへの外挿性

【モニタリング技術】

- 血液でのブリッジング
- 遺伝子発現を反映するサロゲートマーカー
- メタボロミクス(公募研究等)

【外挿性の裏付けデータ】

- in vitro系においてラットとヒトで同様の結果
- 毒性機序に関連する生体機能が動物とヒトで類似
- 公募研究 (ヒ組織, 幹細胞等)

再現性確認

- TGPとは異なるCROでデータ収集
- 遺伝子発現解析はTGP 1カ所になるが, 施設間誤差についてはバリデーション試験で保証

TGP2におけるバイオマーカー探索戦略

チームA(上原)

病理型バイオマーカーⅢの確立
レベルⅢクライテリアの設定
バイオマーカーの検証

チームD(南 ← 堀之内)

miRNAマーカーの検討
メタボロミクスマーカー
→ ヒト外挿性
→ 特許取得

チームB(中津)

文献情報型バイオマーカーⅢの確立
モデル動物実験の実施
TGP2マーカーとして確立

チームE(小野)

バイオマーカー・判別モデルの共有
バイオマーカーの利用法検討

チームC(住田)

In vitroデータの取得
In vivo- in vitroブリッジング
DMSO濃度の影響について論文化

※プロジェクト終了時点でのチーム名(チームリーダー)を示す

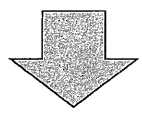
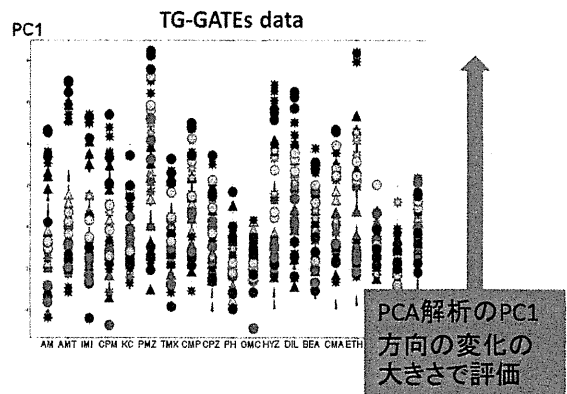
TGP初期のバイオマーカー探索

ラット反復投与試験で肝臓のリン脂質症を予測するスコアリングマーカー

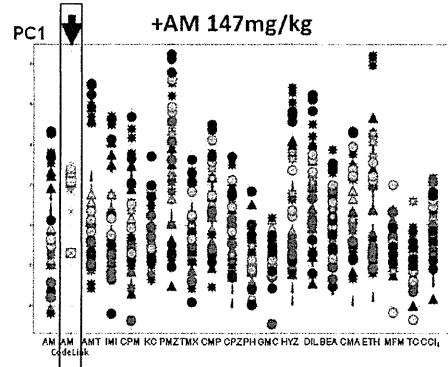
初期モデルの構築

Hirode et al., Toxicol. App. Pharmacol. 229, 290-299, 2008

1. AM, AMT, CPM, IMI, KCのラット反復投与(4, 8, 15, 29d)の肝臓データ(全用量)
2. 前処理: global (mean)補正, all Aを除外
3. マーカー選択: 時点ごとにANOVA (Welch)で $p < 0.05$ の遺伝子を抽出して全時点unionをとる. 5化合物共通に変動した遺伝子を選択
4. モデル構築手法: PCA (PC1)



ポジティブ化合物で共通に変動した78プローブセットからeigenvalue上位20プローブセットに絞り, さらに検証に用いたCodeLinkにも同じ遺伝子がある14プローブセットをレベルⅢマーカーとした



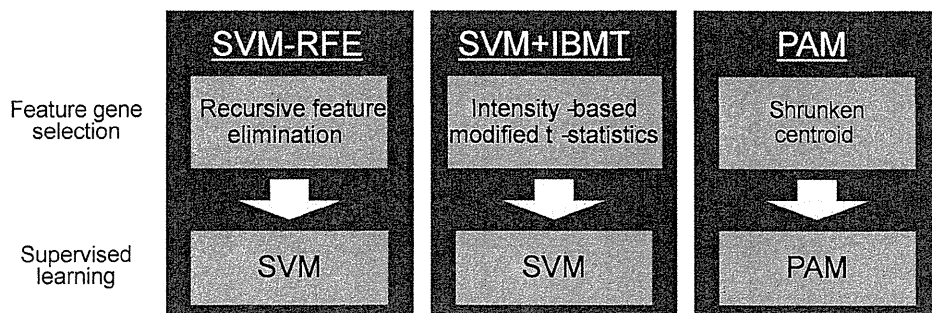
外部検証データ

病理型バイオマーカーIIIのクライテリア(アップデート)

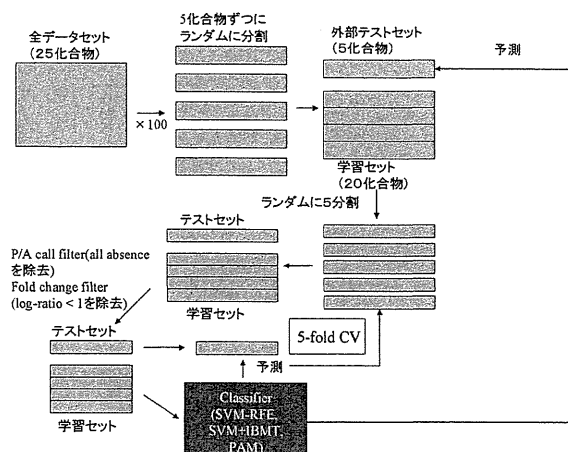
- 再現性検証
 - TGPデータあるいは自社データを使用して、十分なデータセットでトレーニング/テスト(再現性を含む)を実施して構築したバイオマーカー(判別モデル)である
- 生物学的検証
 - 生物学的にトレーニング/テストセットの判別結果の妥当性が主張できる
 - 判別モデルの場合、予測精度(%)にクライテリアは設けないが、従来法と比較して有用性を主張できるレベルである
 - 選抜した遺伝子について、バイオマーカーとしての生物学的な妥当性が主張できる(ことが望ましい)
- インフォマティクス検証
 - 解析操作上での判別モデル構築/バイオマーカー選抜の再現性に問題がない
 - 選抜したFeature Geneに関して、統計学的な妥当性が主張できる(Over Fittingではないことを確認)

インフォマティクス: マーカー遺伝子抽出及び判別モデル作成の例

- 異なる3種類の遺伝子選抜法及びモデル化アルゴリズムを使用して、判別モデルを構築

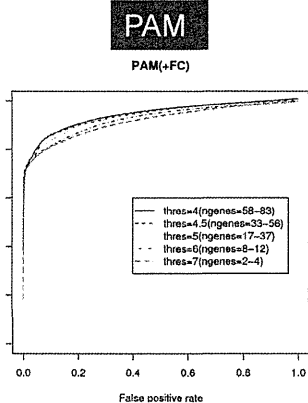
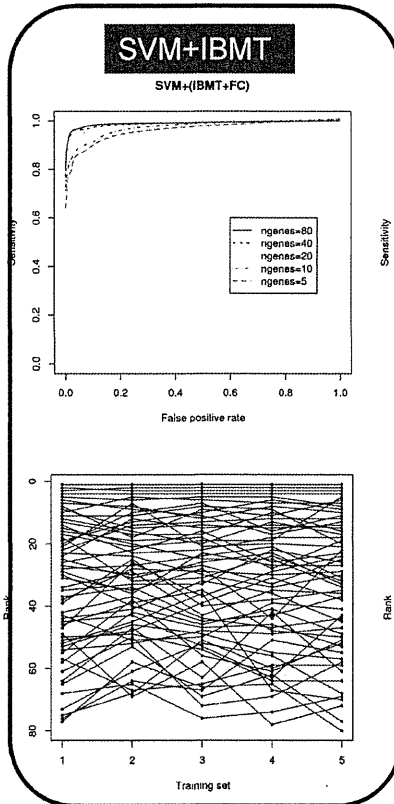
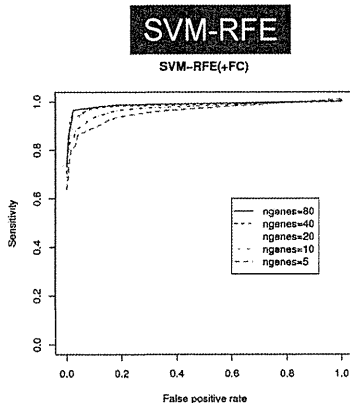


- トレーニング及びテストセット予測
- 5foldクロスバリデーションを繰り返して最適モデルを構築

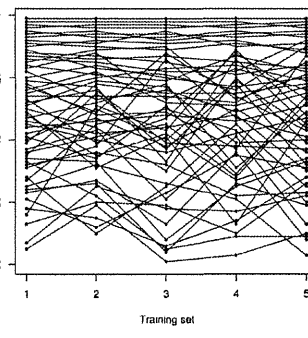
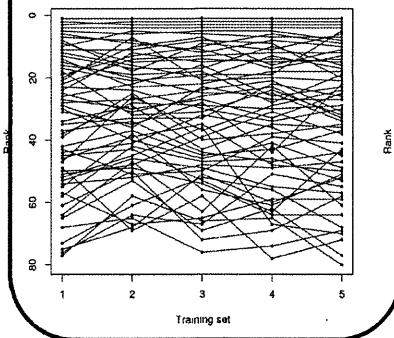
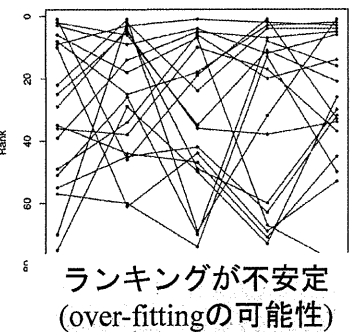


インフォマティクス： マーカー遺伝子抽出及び判別モデル作成の例

ROC解析による評価



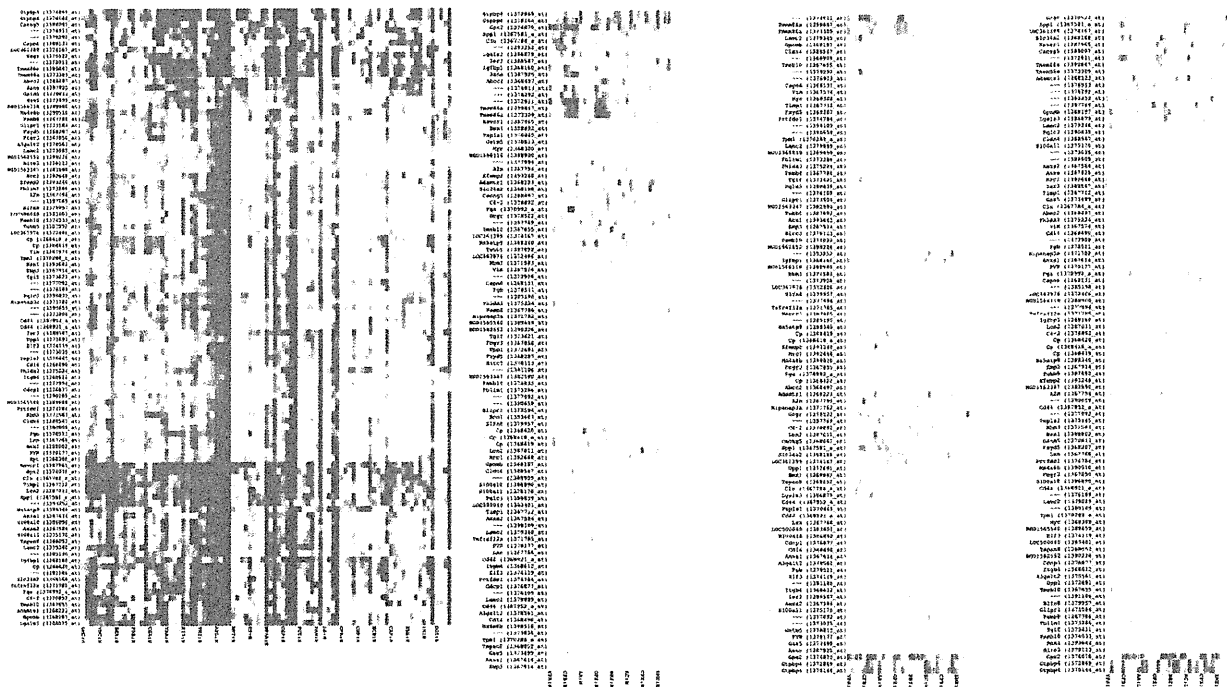
Feature gene ranking



特徴遺伝子の発現変動プロファイル ラット反復投与試験で腎臓の尿細管障害を診断・予測する判別マーカー

Nephrotoxic compounds

Non-nephrotoxic compounds



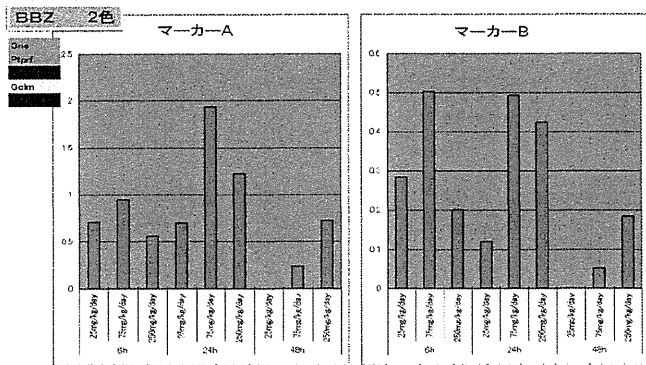
腎毒性陽性サンプルに特異的な発現変動プロファイル

Toxicology 265 (2009) 15-26

再現性の検証:外部データを用いた検証

公共DB登録データや自社取得データを用いた検証を実施

ラット単回投与試験で肝臓のグルタチオン枯渇をスコアにより定量評価する診断マーカー



GEO登録データを用いた検証

ラット単回及び反復投与試験で肝臓の壊死を予測する判別マーカー

薬剤	壊死	用量 (mg/kg)	24H (陽性例数)	1W (陽性例数)
チエニル酸	あり Toxicol Lett. 1980; July; 61:293-9.	0	0	0
		300	2	3
		1000	3	3
ネファゾド	あり Ann Intern Med. 1999 Feb 16; 130(4 Pt 1):295-8.	0	0	0
		300	3	1
		1000	3	3
アモジアキン	あり Br Med J Clin Res Ed 1985 Mar 15; 292(6522):721-3.	0	0	0
		100	1	1
		300	2	1
ピオグリタゾン	なし Hepatology, Volume 33, Issue 4, 1009-1013, 2001	0		0
		3		0
		30		0

自社取得データを用いた検証

生物学的妥当性:薬剤性障害の検出

ラット反復投与試験で肝臓の脂肪化を診断/予測する判別マーカー

薬剤性肝脂肪化マーカー

高脂肪食マーカー

ポジリスト	ネガリスト	プローブ数
-------	-------	-------

ポジリスト	ネガリスト	プローブ数
-------	-------	-------

脂肪化ポジ化合物
(CCl4, IMI, HYZ)

脂肪化ネガ化合物
(10化合物)

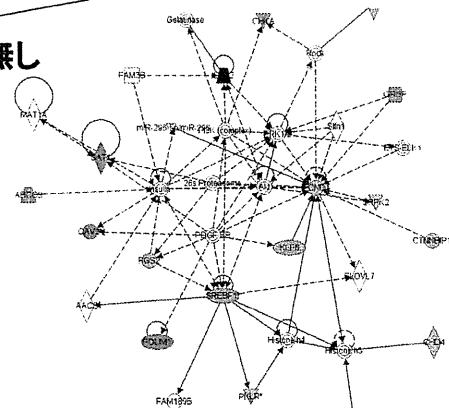
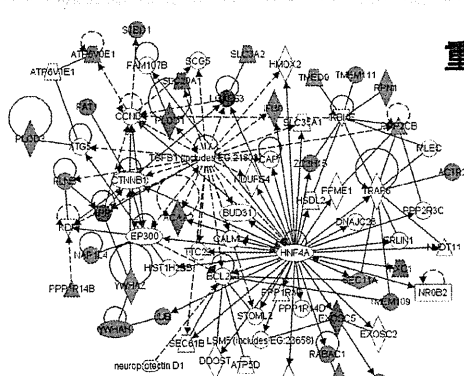
高脂肪食
(3, 7, 14, 28days)

脂肪化ネガ化合物
(10化合物)

60

67

重複遺伝子無し



HNF4A: 脂質、糖質代謝を調節し、SHPによって抑制的に調節される。
 SHP: 肝での脂質合成、取り込みなどを調節し、KOマウスは脂肪肝を抑制する。
 TGFβ: 脂質、糖質代謝を調節し、シグナルを阻害することで脂肪化を抑制する。

SREBF1: 脂質代謝(主に脂肪酸)に大きく関与する。脂肪細胞の分化を制御する。
 insulin: 糖質、脂質代謝を調節

生物学的妥当性？

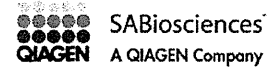
ラット反復投与試験で肝臓のリン脂質症を予測するスコアリングマーカ

リン脂質症スコアリングマーカーリスト

Aldh1a1	
Cyp2b1/2b2	
Cyp3a23/3a1,	
Gsta5,	
Ugt1a1	
Fxc1	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit
Ephx1	Epoxide hydrolase
Ugt2b1	
Stbd1	starch binding domain 1
Sc4mol	sterol-C4-methyl oxidase-like
Manba	Beta-mannosidase
Mrps18b	28S ribosomal protein S18b, mitochondrial
Cpped1	calcineurin-like phosphoesterase domain containing 1.

TGPマーカー13
遺伝子(Ugt1a1
は重複)のうち、9
遺伝子が共通

Molecular Toxicology PathwayFinder PCR Array



Human

Mouse

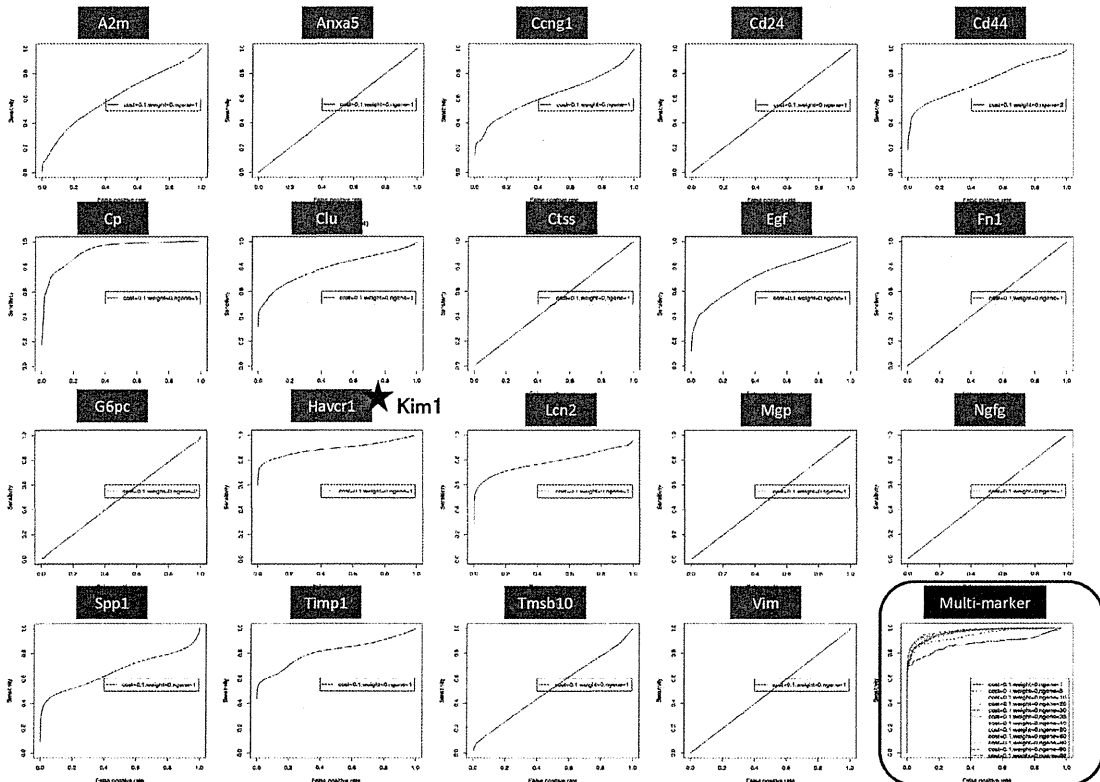
Rat

Rat Molecular Toxicology PathwayFinder PCR Array

Phospholipidosis: Abcb1b, Aldh1a1, Asah1, Asns, Ces2c, Ctsb, Ephx1, Fabp1, Fxc1, Gstm4, Hpn, Inhbe, Lss, Manba, Mix, Mrps18b, Nr0b2, Por, S100a8, Sc4mol, Serpina3n, Slc2a3, Slco1a4, Smpd1, Stbd1, Tagln, Ugt1a1, Ugt2a1, Ugt2b1, Wipi1.

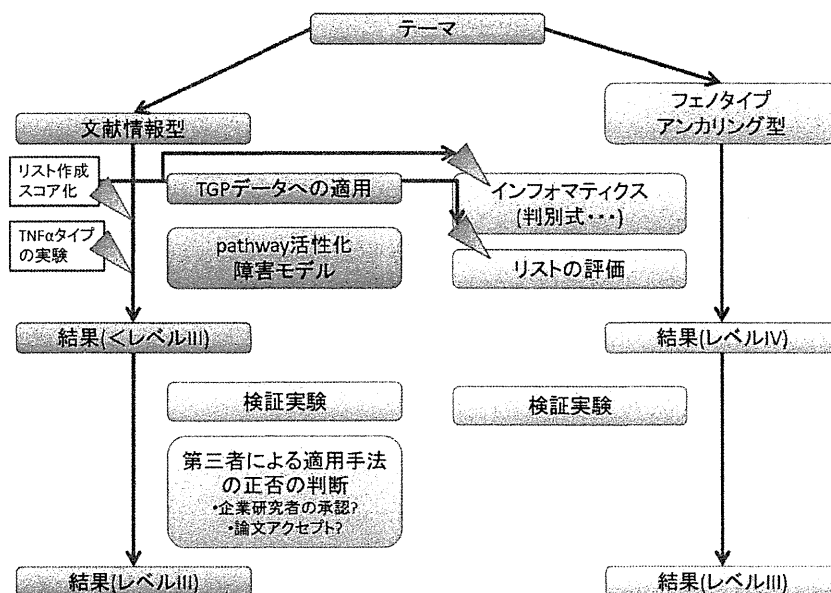
http://www.sabiosciences.com/rt_pcr_product/HTML/PARN-3401A.html

判別モデル(マルチマーカーによる予測)の優位性 単一遺伝子マーカーを使用した腎毒性予測との比較 (Wang et. al. 2008)



■ これまで報告されている何れの単一腎毒性BMよりも、TGP判別モデルが優れた予測結果を示す

文献情報型バイオマーカーのレベル評価クライテリア

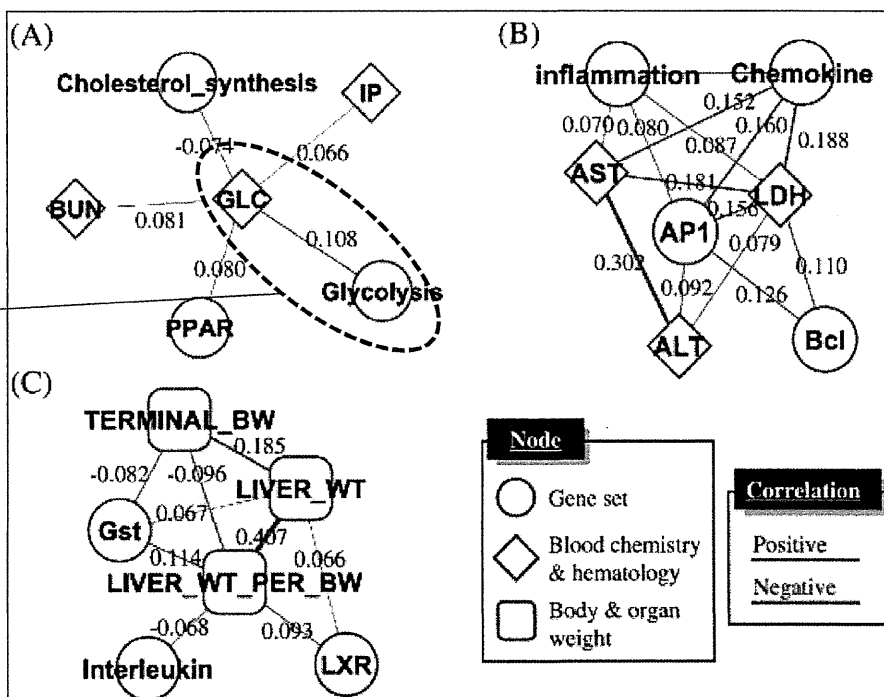


Level IV: メカニズム等から作成したマーカー候補がTGPデータに適用可能
 (化合物投与による変動が認められ、メカニズムへの作用が評価可能)
 Level III: 毒性学的な意義付けが可能

文献情報型バイオマーカー探索例 遺伝子セットレベルの関連抽出

1. 文献情報をもとにした特定メカニズムに関わる遺伝子リスト(セット)の作成
2. 遺伝子セット間及び遺伝子セットと毒性評価エンドポイントの相関性を解析

毒性評価のエンドポイントと相関性の高い遺伝子セットについて解析

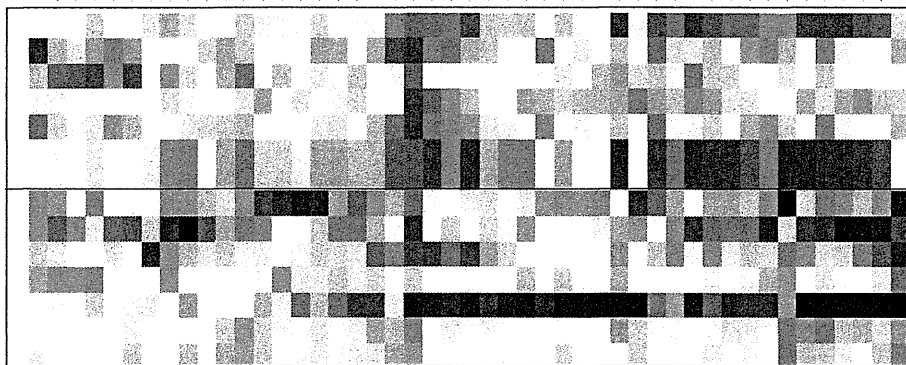


糖代謝活性及び低下脂肪酸生合成能を評価するためのスコアリング用途マーカー

TGPデータをもとに

- 変動遺伝子の絞り込み
- 毒性評価における有用性の検証

毒性メカニズム評価マーカー



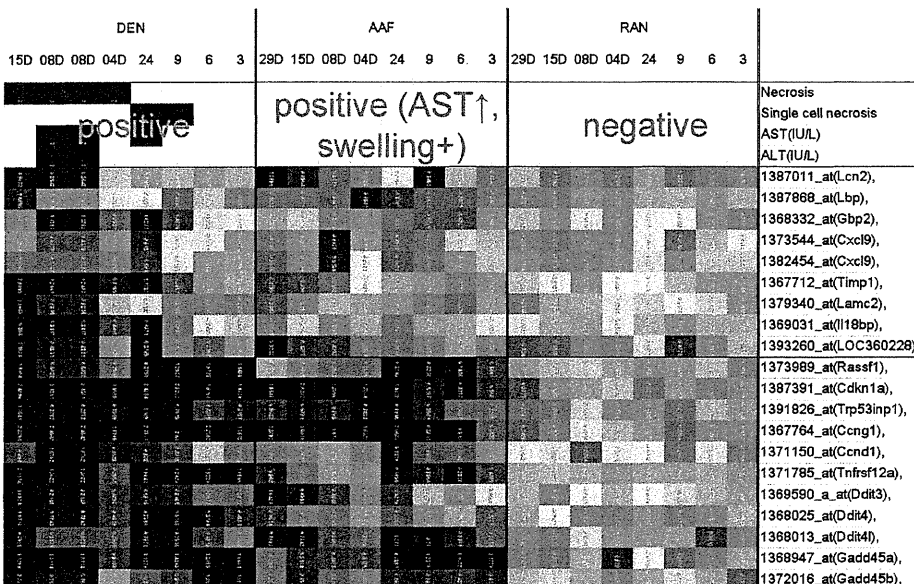
NMA1366H300.000HL
 BCT1385H2000.000HL
 BEA1345H60.000HL
 PCT1085H2000.000HL
 INAH10025H2000.000HL
 INAH10025H2000.000HL
 CSA1423H300.000HL
 CCL4100380.300.000HL
 PMZ110280.200.000HL
 NMA1366H300.000HL
 NF10916H1000.000HL
 NF10916H1000.000HL
 ACZ10810.600.000HL
 TMC1223H500.000HL
 GFZ0313H300.000HL
 ETN1373H400.000HL
 K10089.9H50.000HL
 C3P0236H250.000HL
 MWS0818H500.000HL
 ETN1373H400.000HL
 TAA017150.45.00HL
 F10441501.800.00HL
 F10442901.600.00HL
 K03067260.200.00HL
 WY0008H100.000HL
 FFB0795H1000.000HL
 K04068290.1000.00HL
 PP03730.200.00HL
 FFB0795H1000.000HL
 HPL036180.300.00HL
 HPL036180.300.00HL
 WY1030260.100.00HL
 EE065150.100.00HL
 GFZ103124H300.00HL
 CFB06360.300.00HL
 FFB0795H1000.000HL
 FFB0795H1000.000HL
 GFZ0313H300.000HL
 GFZ0313H300.000HL
 SST11702.600.00HL
 ETN1373H400.000HL
 WY0391150.100.00HL
 FFB0795H1000.000HL
 FFB0795H1000.000HL
 WY0391150.100.00HL
 WY1030260.100.00HL
 CFB06360.300.00HL

PPAR α 活性化剤が多い

Down-regulationの際には協調した変動を示すことが多いが、必ずしも全ての場面で協調した発現変動を示すわけではない。

ラット単回及び反復投与試験で肝臓の壊死を評価するためのp53, TNF α メカニズムに基づいたスコアリング用途マーカー

病理所見 (Single cell necrosis, Necrosis) との対比 → 壊死性変化の評価に有用



Single cell necrosis, Necrosis: 各群で1匹でも所見を示すと赤
AST, ALT: p<0.05を満たすと赤

p53パスウェイ

TNF α パスウェイ

文献情報型バイオマーカー探索例

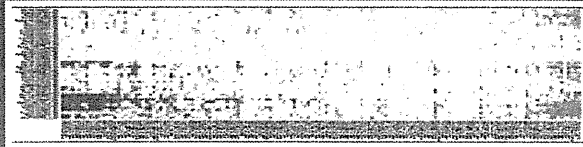
ラット単回(24時間目)および反復投与試験で肝臓の好酸性顆粒状変性を予測・診断する判別マーカー



検討内容

チームB
遺伝子リスト
(機能既知)

ペルオキシゾーム局在蛋白の遺伝子リスト(チームB)



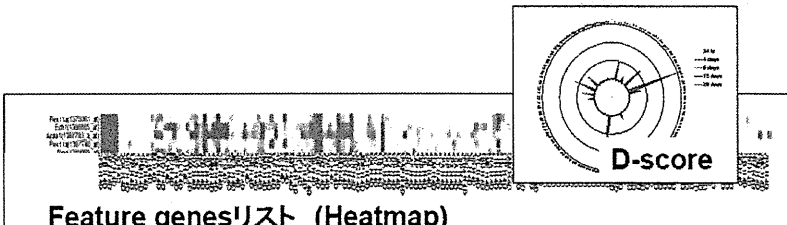
病理所見
(表現型)との
リンク

病理所見に基づいた判別分析によるリストの洗練化

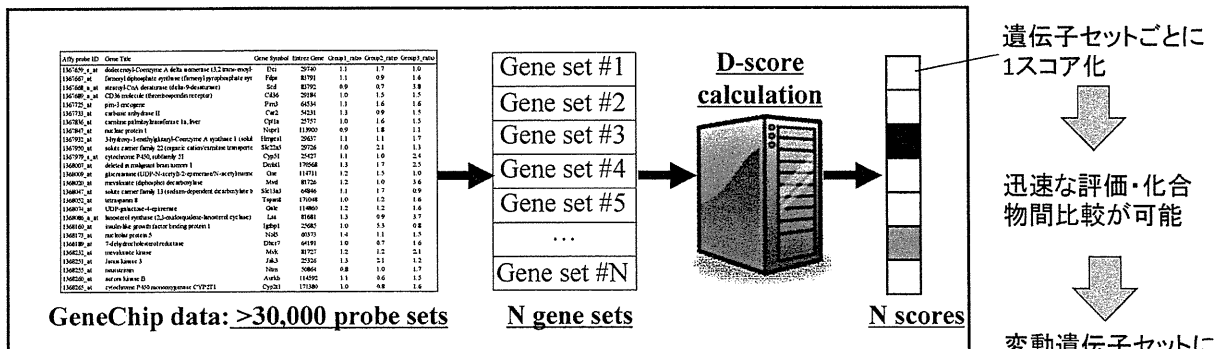
陽性ラベル: 小葉中心性好酸性顆粒状変性
陰性ラベル: 肝重量増加なし且つ肝肥大に関連する所見のないサンプル

結果検証
活用考案

Feature genesリスト (Heatmap)



マルチマーカーを用いた簡易評価用単一スコア化手法 遺伝子セット全体の変動を数値化



スコア化の例

TGP1score

Kiyosawa N, et al.
J Toxicol Sci. 2006;31(5):433-48

D-score

Kiyosawa N, et al.
Toxicol Lett. 2009;188(2):91-7

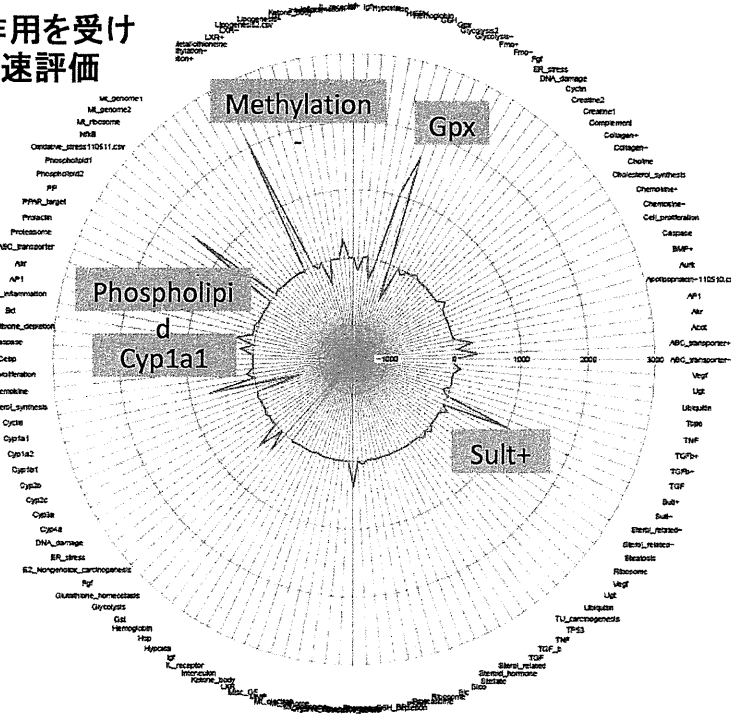
特徴

- 特定の遺伝子セットに関して、
- ①発現変動の方向が一致 (Up / down)
 - ②発現変動レベルが大きい場合に増大 / 低下する性質を持つ

i-Compass

D-scoreによる活性化メカニズム(パスウェイ)の網羅的評価

化合物によって作用を受けるメカニズムの迅速評価



毒性発現メカニズムや毒性発現に関連するシグナルパスウェイに関与する遺伝子セット(91セット)(文献情報等から作成した遺伝子リストをもとにTGPデータで変動の認められる遺伝子に絞り込み)

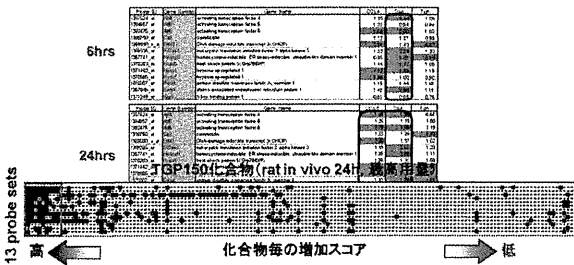
in vitro バイオマーカーの構築

小胞体ストレス評価マーカー

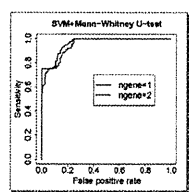
ラット, in vivo

ラット, in vitro, ヒト, in vitro で評価可能なprobesetに絞り込み

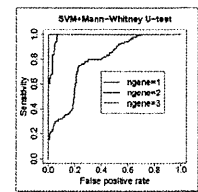
- Cribb AE et al., Drug Metabolism Reviews 37,405-442等, 複数の小胞体ストレスに関する既報論文から候補遺伝子をリスト化
- TGPデータで変動が確認された13プローブセットに絞り込み



ラット, in vitro	ヒト, in vitro
ATF4 1367624_at	ATF4 200779_at
SERP1 1386900_at	SERP1 200970_s_at
	SERP1 200971_s_at



in vitro が若干用量不足のため成績が落ちている



良好

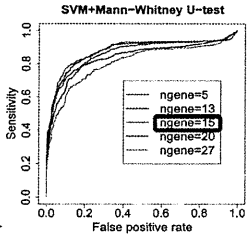
Human(in vitro)におけるPPARα活性化マーカー

rat in vivo, in vitro(各24h)マーカー (Tamura et al., J. Toxicol. Sci. 31, 471-490, 2006.)

ヒト, in vitro データで新たにマーカー構築

	CFB	WY
200811_at	1.000	1.000
200812_at	1.000	1.000
200813_at	1.000	1.000
200814_at	1.000	1.000
200815_at	1.000	1.000
200816_at	1.000	1.000
200817_at	1.000	1.000
200818_at	1.000	1.000
200819_at	1.000	1.000
200820_at	1.000	1.000
200821_at	1.000	1.000
200822_at	1.000	1.000
200823_at	1.000	1.000
200824_at	1.000	1.000
200825_at	1.000	1.000
200826_at	1.000	1.000
200827_at	1.000	1.000
200828_at	1.000	1.000
200829_at	1.000	1.000
200830_at	1.000	1.000
200831_at	1.000	1.000
200832_at	1.000	1.000
200833_at	1.000	1.000
200834_at	1.000	1.000
200835_at	1.000	1.000
200836_at	1.000	1.000
200837_at	1.000	1.000
200838_at	1.000	1.000
200839_at	1.000	1.000
200840_at	1.000	1.000
200841_at	1.000	1.000
200842_at	1.000	1.000
200843_at	1.000	1.000
200844_at	1.000	1.000
200845_at	1.000	1.000
200846_at	1.000	1.000
200847_at	1.000	1.000
200848_at	1.000	1.000
200849_at	1.000	1.000
200850_at	1.000	1.000
200851_at	1.000	1.000
200852_at	1.000	1.000
200853_at	1.000	1.000
200854_at	1.000	1.000
200855_at	1.000	1.000
200856_at	1.000	1.000
200857_at	1.000	1.000
200858_at	1.000	1.000
200859_at	1.000	1.000
200860_at	1.000	1.000
200861_at	1.000	1.000
200862_at	1.000	1.000
200863_at	1.000	1.000
200864_at	1.000	1.000
200865_at	1.000	1.000
200866_at	1.000	1.000
200867_at	1.000	1.000
200868_at	1.000	1.000
200869_at	1.000	1.000
200870_at	1.000	1.000
200871_at	1.000	1.000
200872_at	1.000	1.000
200873_at	1.000	1.000
200874_at	1.000	1.000
200875_at	1.000	1.000
200876_at	1.000	1.000
200877_at	1.000	1.000
200878_at	1.000	1.000
200879_at	1.000	1.000
200880_at	1.000	1.000
200881_at	1.000	1.000
200882_at	1.000	1.000
200883_at	1.000	1.000
200884_at	1.000	1.000
200885_at	1.000	1.000
200886_at	1.000	1.000
200887_at	1.000	1.000
200888_at	1.000	1.000
200889_at	1.000	1.000
200890_at	1.000	1.000
200891_at	1.000	1.000
200892_at	1.000	1.000
200893_at	1.000	1.000
200894_at	1.000	1.000
200895_at	1.000	1.000
200896_at	1.000	1.000
200897_at	1.000	1.000
200898_at	1.000	1.000
200899_at	1.000	1.000
200900_at	1.000	1.000

humanオーソログの変動について検討→変動が小さい



- ラットとの重複全くなし
- PPARαの下流で誘導されることが知られる遺伝子が多く含まれる

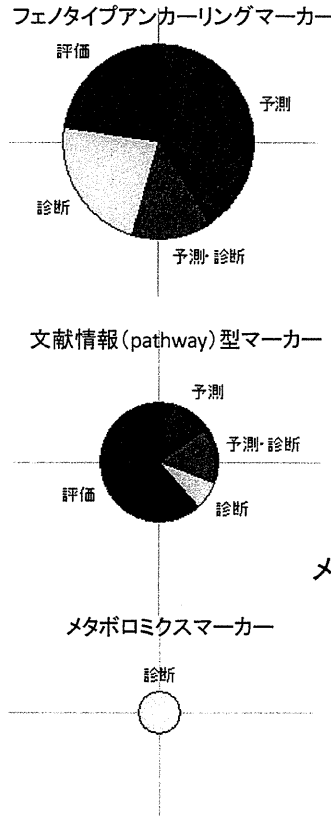
TGPバイオマーカーで評価可能な毒性の種類

フェノタイプアンカーリングマーカー

エンドポイント	対象臓器	評価時点	評価の種類	評価法
グルタチオン枯渇	肝	単回	診断	スコア
リン脂質症	肝	rat vitro	診断	判別
リン脂質症	肝	反復	診断	判別
PPARαアゴニスト活性	肝	単回	評価	判別
	肝	rat vitro	評価	判別
	肝	human vitro	評価	判別
血液凝固不全	肝	反復	診断	判別
肝壊死	肝	単回	診断	判別
脂肪化	肝	反復	予測・診断	判別
線維化	肝	反復	評価	スコア
尿細管障害	腎	単回	診断	判別
	腎	反復	予測・診断	判別
骨髄抑制性貧血	肝	単回、反復	診断	スコア
細胞障害型遺伝毒性及び非遺伝毒性発がん作用	肝	反復	診断	判別
	肝	単回	診断	判別
乳頭障害	腎	単回、反復	予測・診断	判別
発がん性	肝	反復	診断	判別
リン脂質症	肝	単回	診断	判別
胆管増生	肝	反復	診断	判別
遺伝毒性発がん作用	肝	単回、反復	診断	判別

文献情報(pathway)型マーカー

エンドポイント	対象臓器	評価時点	評価の種類	評価法
好酸性顆粒状変性	肝	反復	予測・診断	判別
酵素誘導型小胞体増生	肝	反復	診断	判別
糖代謝活性低下	肝	単回	評価	スコア
脂肪酸合成能	肝	単回	評価	スコア
細胞増殖活性	肝	単回	評価	スコア
脂質代謝活性亢進の分子メカニズム	肝	単回	評価	スコア
酸化ストレス	肝	単回	評価	スコア
小胞体ストレス	肝	単回	評価	スコア
	肝	rat vitro	診断	判別
肝壊死(TNFα)	肝	単回	評価	スコア
肝壊死(p53)	肝	単回	評価	スコア

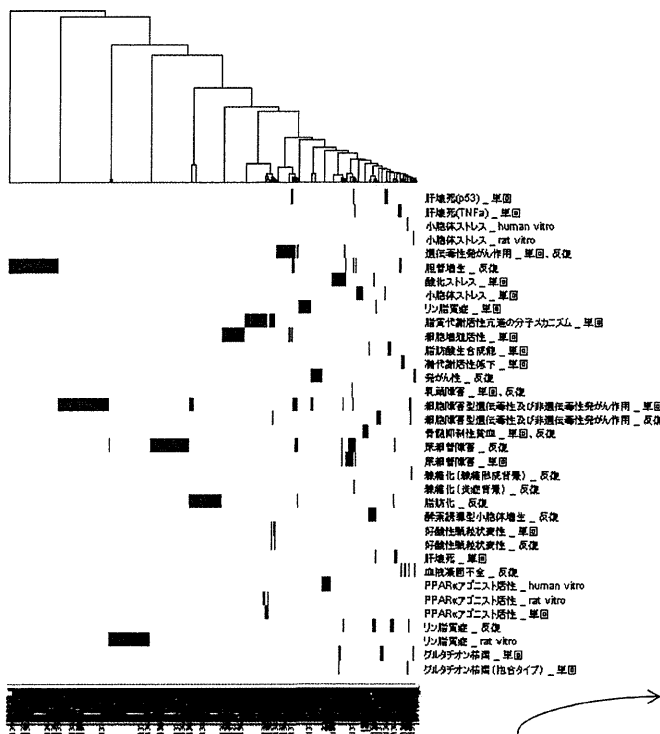


+ iCompass

メタボロミクスマーカー

エンドポイント	対象臓器	評価時点	評価の種類	評価法
腎障害	腎	単回、反復	診断	スコア
グルタチオン枯渇に起因する肝障害	肝	単回	診断	スコア
肝障害	肝	単回	診断	スコア

TGP レベルⅢバイオマーカーに含まれるprobeset



Top10 KEGG pathway

Kegg Pathway	Count	%	PValue
Fatty acid metabolism	21	3.47	4.82E-16
PPAR signaling pathway	22	3.64	7.13E-12
Cell cycle	28	4.63	2.85E-11
p53 signaling pathway	20	3.31	1.26E-10
Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	17	2.81	1.31E-08
Biosynthesis of unsaturated fatty acids	10	1.65	8.92E-07
Drug metabolism	16	2.64	1.24E-06
Glutathione metabolism	13	2.15	3.07E-06
Retinol metabolism	14	2.31	3.33E-06
Valine, leucine and isoleucine degradation	11	1.82	5.25E-05

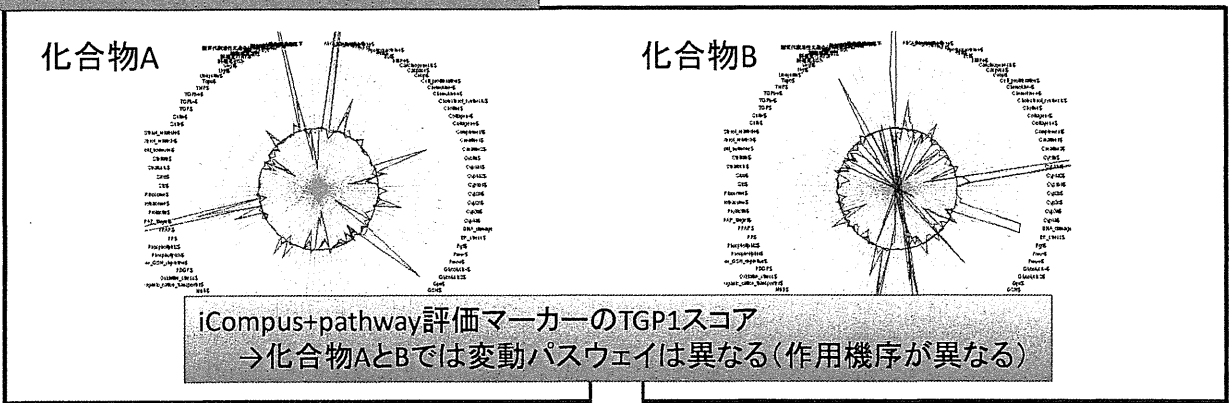
692 probesets !!

TGPバイオマーカ-の利用:

Pathwayマ-カ-とフェノタイプアンカリングマ-カ-の組合せによる毒性メカニズム解析

24時間時点での変動パスウェイ評価

← メカニズム評価(Pathway)マ-カ-による評価



28日間反復投与後の病理組織学的変化

← フェノタイプマ-カ-による評価

Histopathology (±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe)					Histopathology (±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe)							
Liver					Liver							
Hypertrophy, centrilobular	Day 29	(-)	3/5(±)	2/5(±) 3/5(+)	2/4(+) ^b 2/4(2+) ^b	Hypertrophy, centrilobular	Day 29	(-)	(-)	(-)	(-)	3/4(±)
Ground glass appearance, hepatocyte, centrilobular	Day 29	(-)	(-)	1/5(±)	2/4(±) ^b 2/4(+) ^b	Ground glass appearance, centrilobular	Day 29	(-)	(-)	(-)	(-)	3/4(±)
Kidney	Day 4~29	(-)	(-)	(-)	(-) ^b	Kidney	Day 4~29	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

28日間投与後に認められた病理変化は、ほぼ同じ

創薬プロセスにおけるTGPバイオマ-カ-の位置づけ

薬の開発成功率(出典:製薬協DATA BOOK 2002, 2009)

