

# Open TG-GATES



このDBについて    データ検索    公開データ一覧    **利用許諾条件**    お問い合わせ

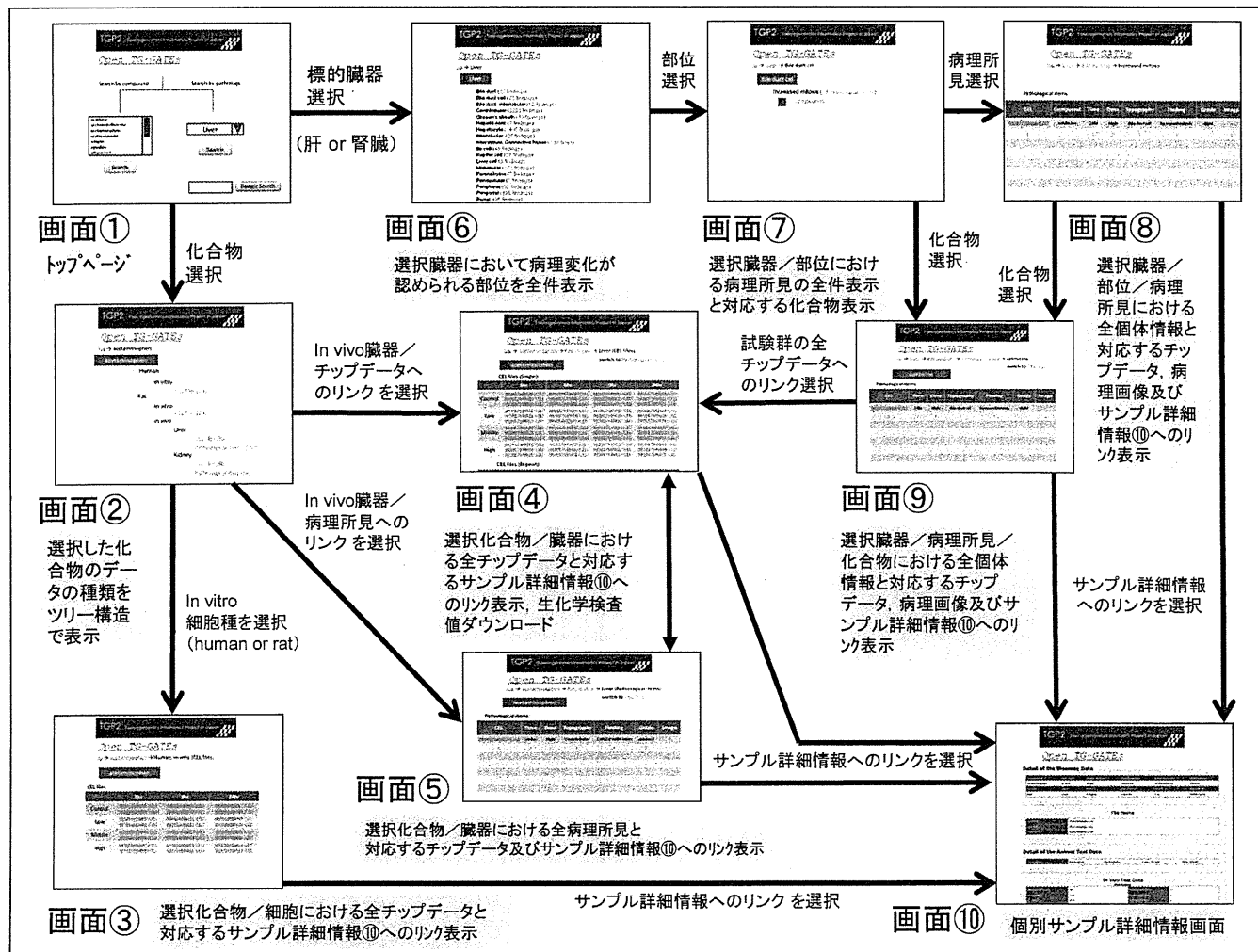
## データベース利用許諾条件

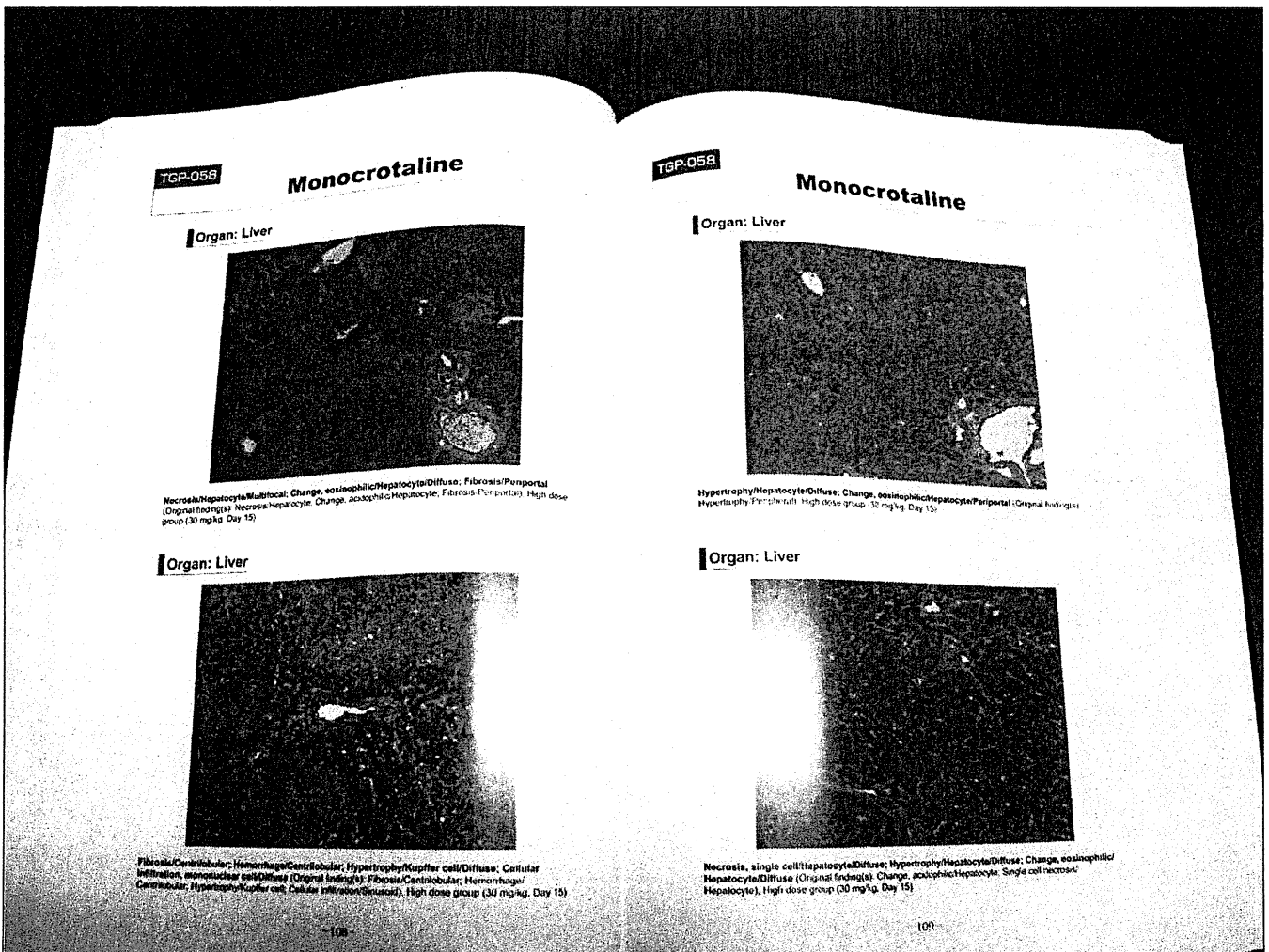
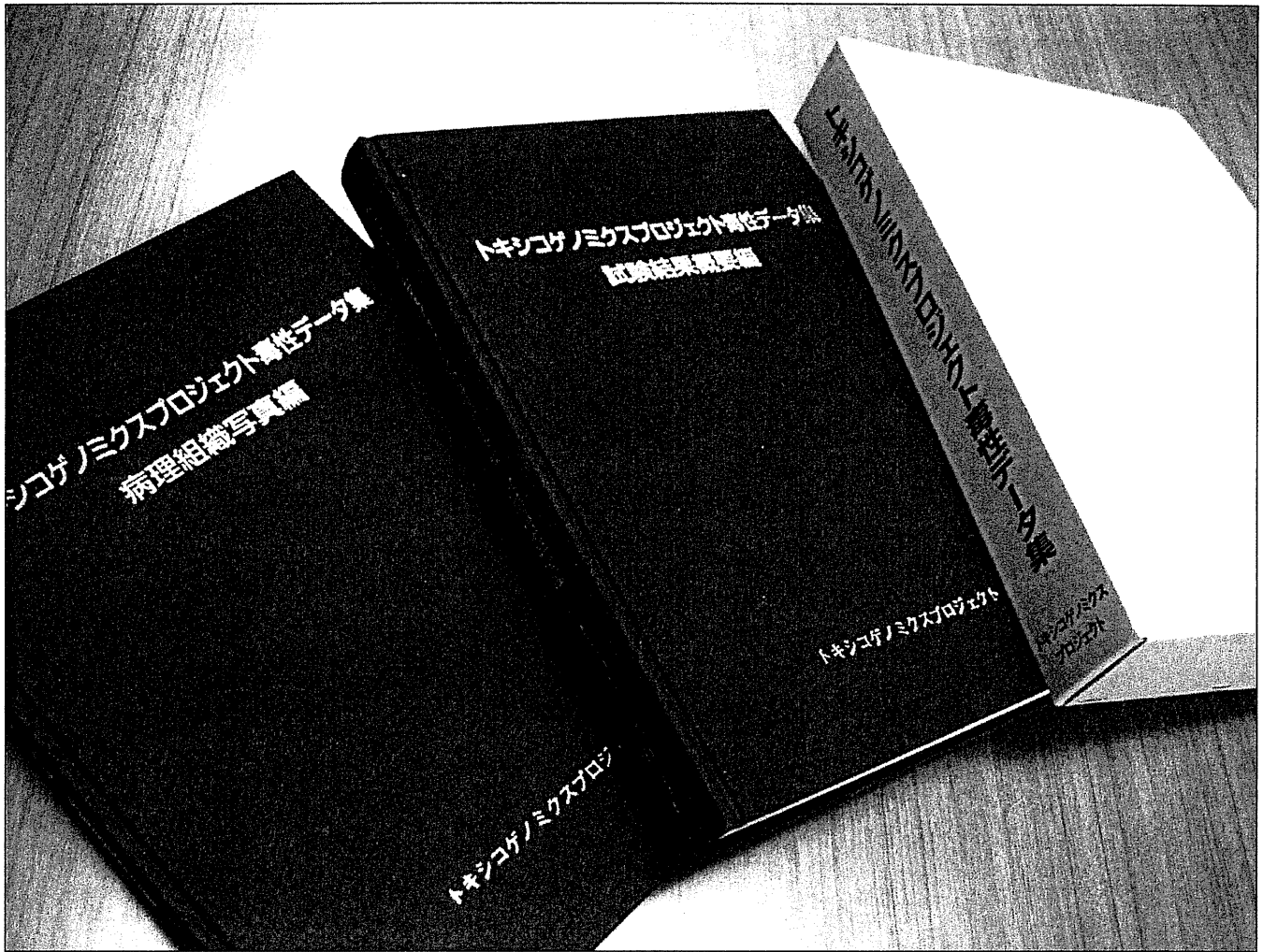
- 本データベースは、トキシコゲノミクスプロジェクトおよびトキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクトにより作成されました。
- 本データベースの利用においては、データベースの全部または一部に自由にアクセスし、データの取得、再配布および二次的著作物の作成・配布ができます。但し、本データベースの利用にあたっては、以下で定める利用許諾条件を遵守して下さい。
  - 本データベースの全部または一部、あるいは二次的著作物の配布に際しては、本データベースの作成者のクレジットを表示して下さい。本データベースのクレジットは、トキシコゲノミクスプロジェクト (Toxicogenomics Project) およびトキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト (Toxicogenomics Informatics Project) です。
  - 本データベースの全部または一部のデータを利用して作成された二次的著作物は、この利用許諾を継承して配布して下さい。
  - 本データベースを利用して研究を行い、その成果を論文に記載する場合は、論文中に必ず本データベースを引用して、本データベース名称 (Open TG-GATES) とURL (<http://toxico.nibio.go.jp>) を記載して下さい。
  - 本利用許諾で許諾されていない事項については、以下の問合せ先に連絡をとり、利用許諾を求めて下さい。

問い合わせ先  
独立行政法人 医薬基盤研究所  
創薬基盤研究部  
トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト  
〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8  
TEL:072-641-9826

EMAIL: [opentggates@nibio.go.jp](mailto:opentggates@nibio.go.jp)

Copyright (C) 2008-2011 National Institute of Biomedical Innovation, All Rights Reserved

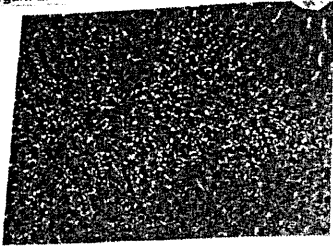




TGP-136

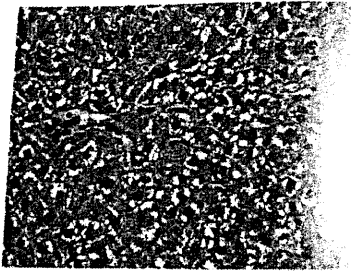
# Phenacetin

Organ: Liver



Deposit, brown pigment/Kupffer cell/Periportal (Original findings) Deposit, hemosiderin/Periportal High dose group (1000 mg/kg, Day 29)

Organ: Liver

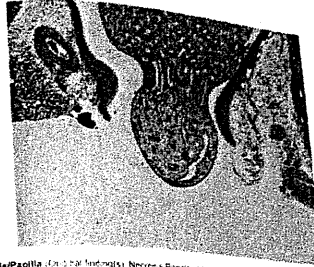


Deposit, brown pigment/Kupffer cell/Periportal (Original findings) Deposit, hemosiderin/Periportal High dose group (1000 mg/kg, Day 29)

TGP-139

# Phenacetin

Organ: Kidney



Necrosis/Papilla (Original findings) Necrosis/Papilla High dose group (1000 mg/kg, Day 29)

Organ: Kidney



Necrosis/Papilla (Original findings) Necrosis/Papilla High dose group (1000 mg/kg, Day 29)

TGP-048

## テトラサイクリンのラットにおける単回及び4週間反復投与毒性試験

### 総括および結論

#### 要約

ラットにテトラサイクリン 100 mg/kgを単回投与し、4週間反復投与した。単回投与後、腎臓に軽度の炎症性変化が認められた。4週間反復投与後、腎臓に軽度の炎症性変化が認められた。血液化学検査では、ASTの上昇が29日目の1000 mg/kg投与群に認められた。その他の臓器には顕著な変化は認められなかった。

Tetracycline: Summary of the single-dose toxicity study in rat

Compound	100 mg/kg	1000 mg/kg	1000 mg/kg (4 weeks)
Species strain (male/female)	Wistar-Kyoto	Wistar-Kyoto	Wistar-Kyoto
Sex	♂	♂	♂
No. of animals	5	5	5
No. of observations	5	5	5
Period (days)	1	1	29
Route of administration	Oral	Oral	Oral
Relative organ weight (% of body weight)			
Liver	2.25	2.47	2.47
Relative organ weight (% of body weight)			
BEI	3.9	1.1	1.1
BUN	6.0	1.3	1.3
Cl	3.8	1.1	1.1
CP	6.4	1.1	1.1
RALE	6.0	1.1	1.1
AS	5.0	1.1	1.1
Relative body weight (% of body weight)	3.04	3.11	3.11
Absor. of organ weight (% of body weight)			
Liver	3.0	3.0	3.0
Kidney	2.1	2.1	2.1
Relative organ weight (% of body weight)			
Liver	2.1	2.1	2.1
Kidney	2.1	2.1	2.1
Microscopic findings			
Liver	3.23	3.23	3.23
Kidney	3.23	3.23	3.23
Histopathology (1 and 29 days)			
Liver			
Macrophages (cytoplasmic, hepatocyte)	9h	19	67
Microfocal			
Kidney	3-24 h	19	19

#### 血液化学検査

1000 mg/kgの単回投与及び4週間反復投与後、ASTの上昇が29日目の1000 mg/kg投与群に認められた。その結果、血液化学検査では、ASTの上昇が29日目の1000 mg/kg投与群に認められた。血液化学検査では、TCの増加が15日目の1000 mg/kg投与群に、TPの低下が15日目の1000 mg/kg投与群に認められた。

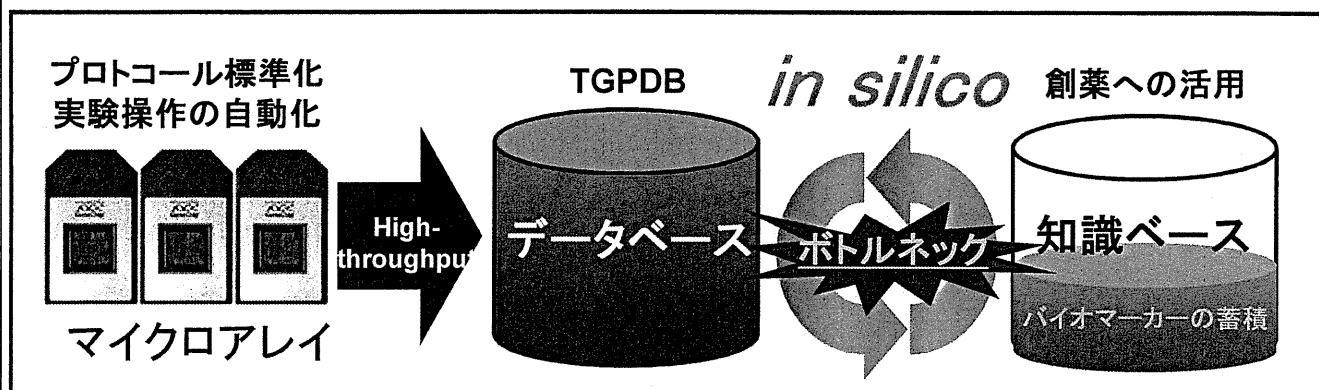
Table 1. Summary of the single-dose toxicity study in rat

Organ	100 mg/kg	1000 mg/kg	1000 mg/kg (4 weeks)
Liver	3.23	3.23	3.23
Kidney	3.23	3.23	3.23
Relative organ weight (% of body weight)			
Liver	3.0	3.0	3.0
Kidney	2.1	2.1	2.1
Microscopic findings			
Liver	3.23	3.23	3.23
Kidney	3.23	3.23	3.23
Histopathology (1 and 29 days)			
Liver			
Macrophages (cytoplasmic, hepatocyte)	9h	19	67
Microfocal			
Kidney	3-24 h	19	19

#### 参考文献

1. ...
2. ...
3. ...
4. ...
5. ...
6. ...
7. ...
8. ...

# トキシコゲノミクス研究のボトルネック



マイクロアレイ技術の発達により、網羅的遺伝子発現データ取得のスループットは劇的に向上した一方で、データベースからの知識探索・活用は自動化できないためにスループットは低い

**TGP大規模DBの資源を有効活用するため、  
知識(バイオマーカー-遺伝子セット)を効率的に探索・活用  
する必要性**

## 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
- 2010 eTOX  
製薬企業、大学が参加する 毒性のIn Silico prediction

### 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

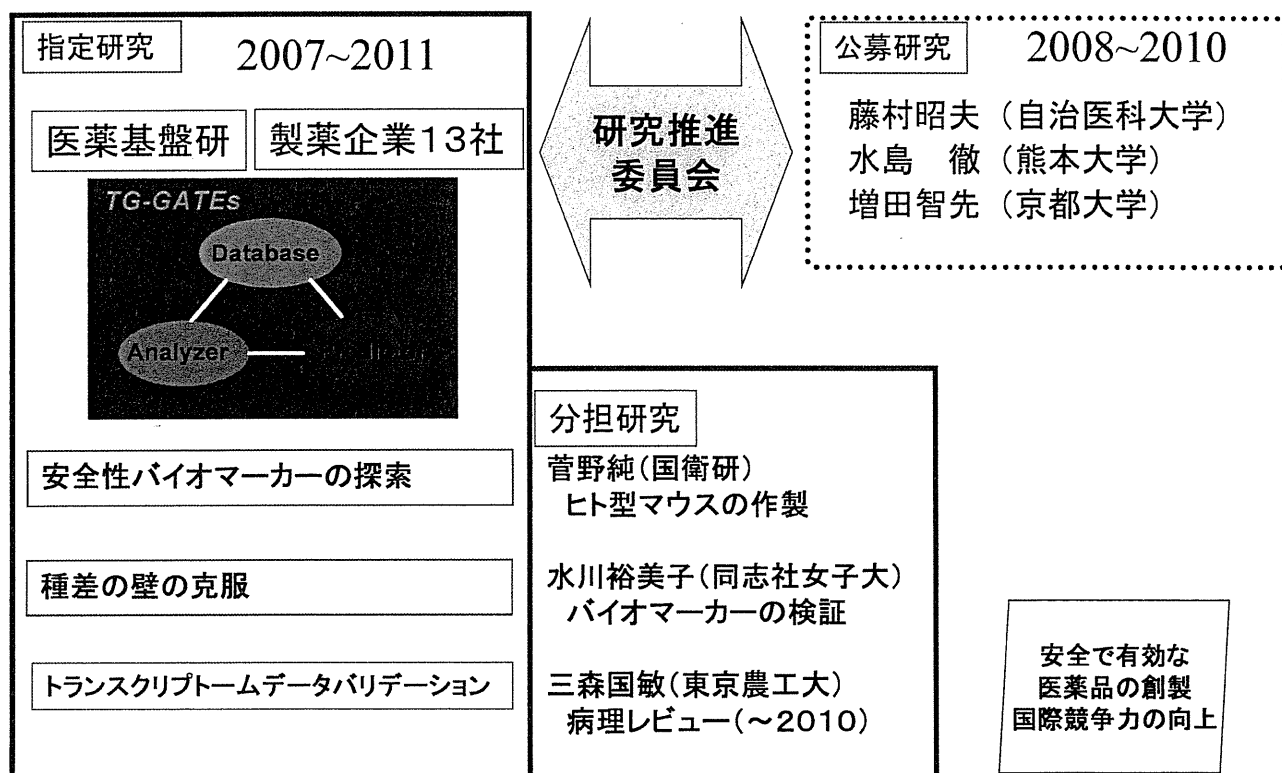
# トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト (TGP2) H19～H23

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



# 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

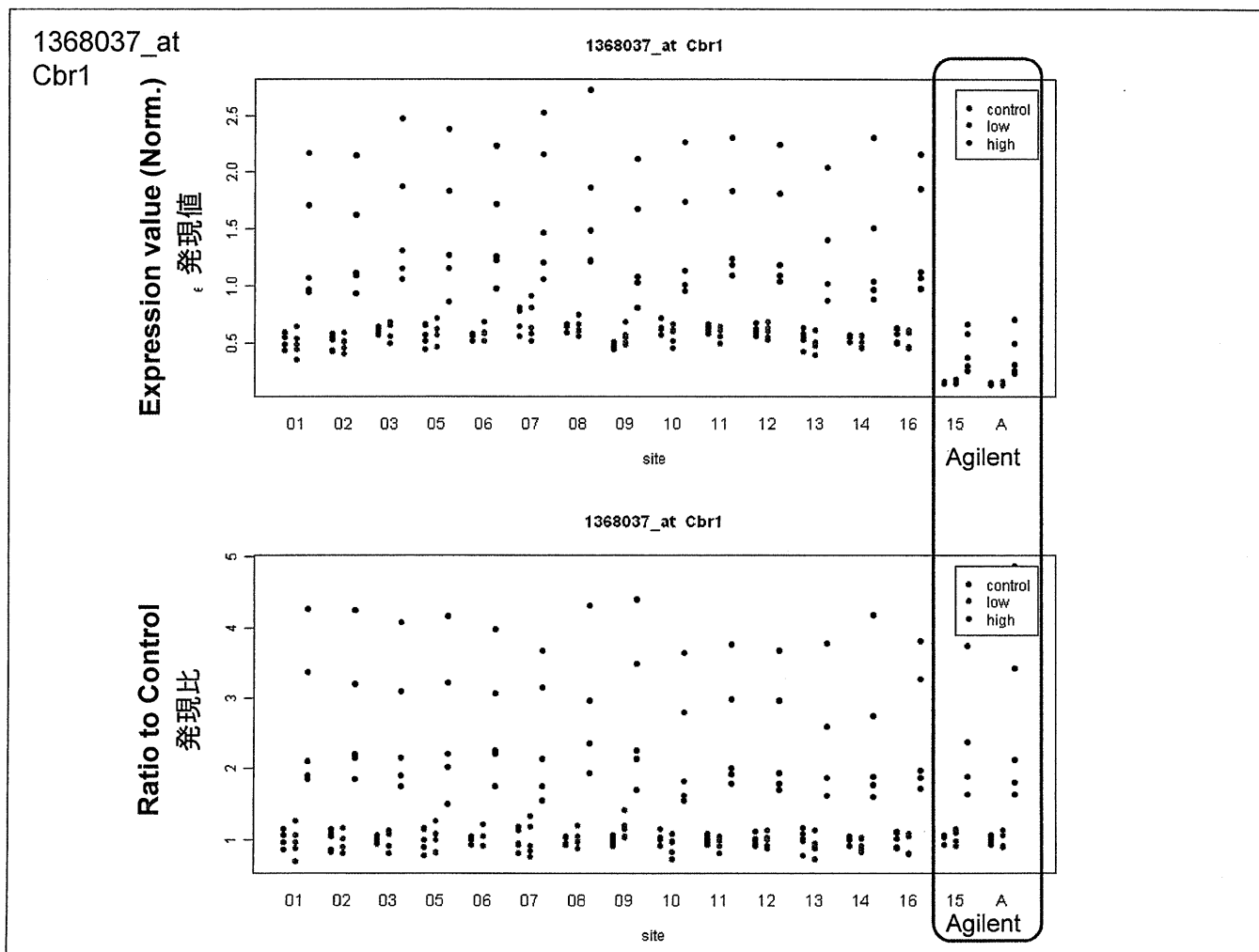
- 1) TGP1の成果(TG-GATEs)を活用してバイオマーカー候補を創出する:目標 30種
- 2) トランスクリプトームおよびそれ以外の手法を用いて種差の壁に挑戦する
- 3) トキシコゲノミクス手法の施設間バリデーションを行い、レギュラトリーサイエンスへの応用の基盤を整備する

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



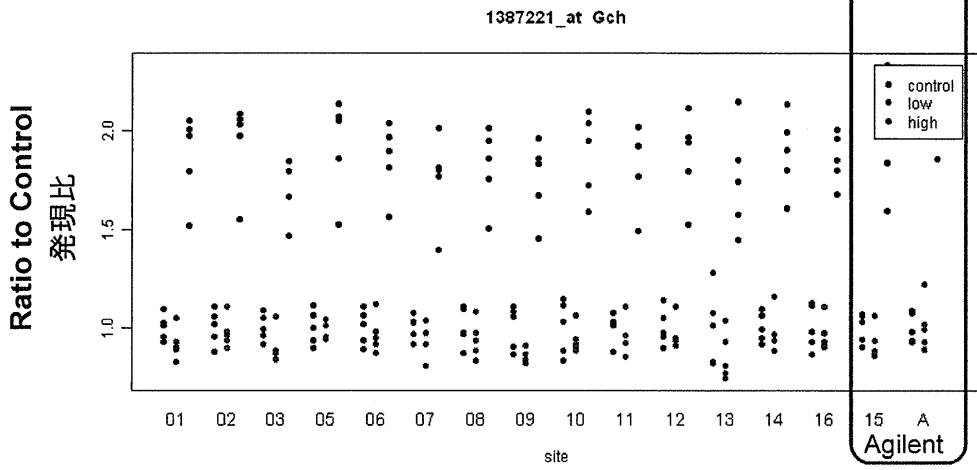
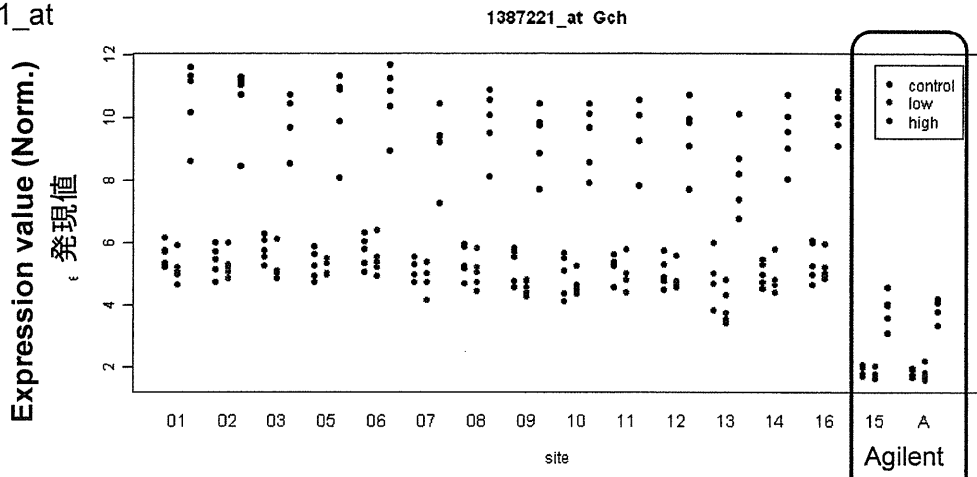
# 既報\*のアセトアミノフェン 応答遺伝子の発現値の比較

\* *J. Toxicol. Sci.* 2007, 32, 469–486.

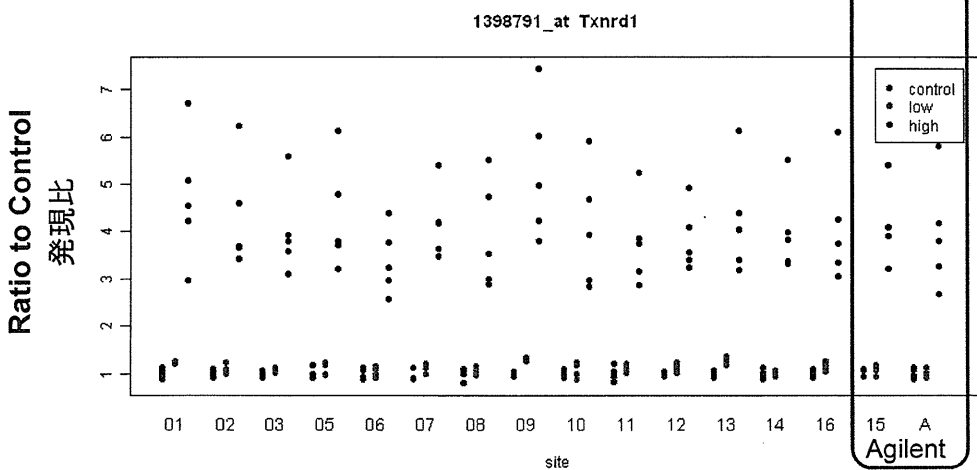
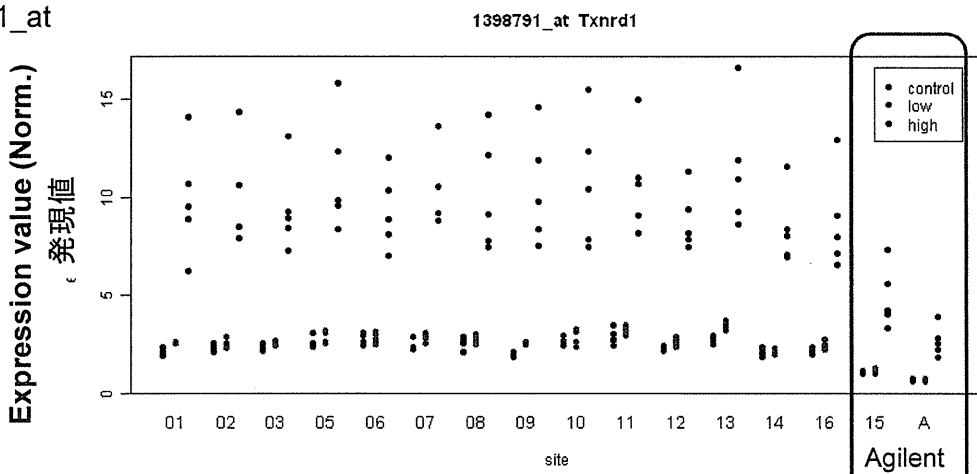




1387221\_at  
Gch



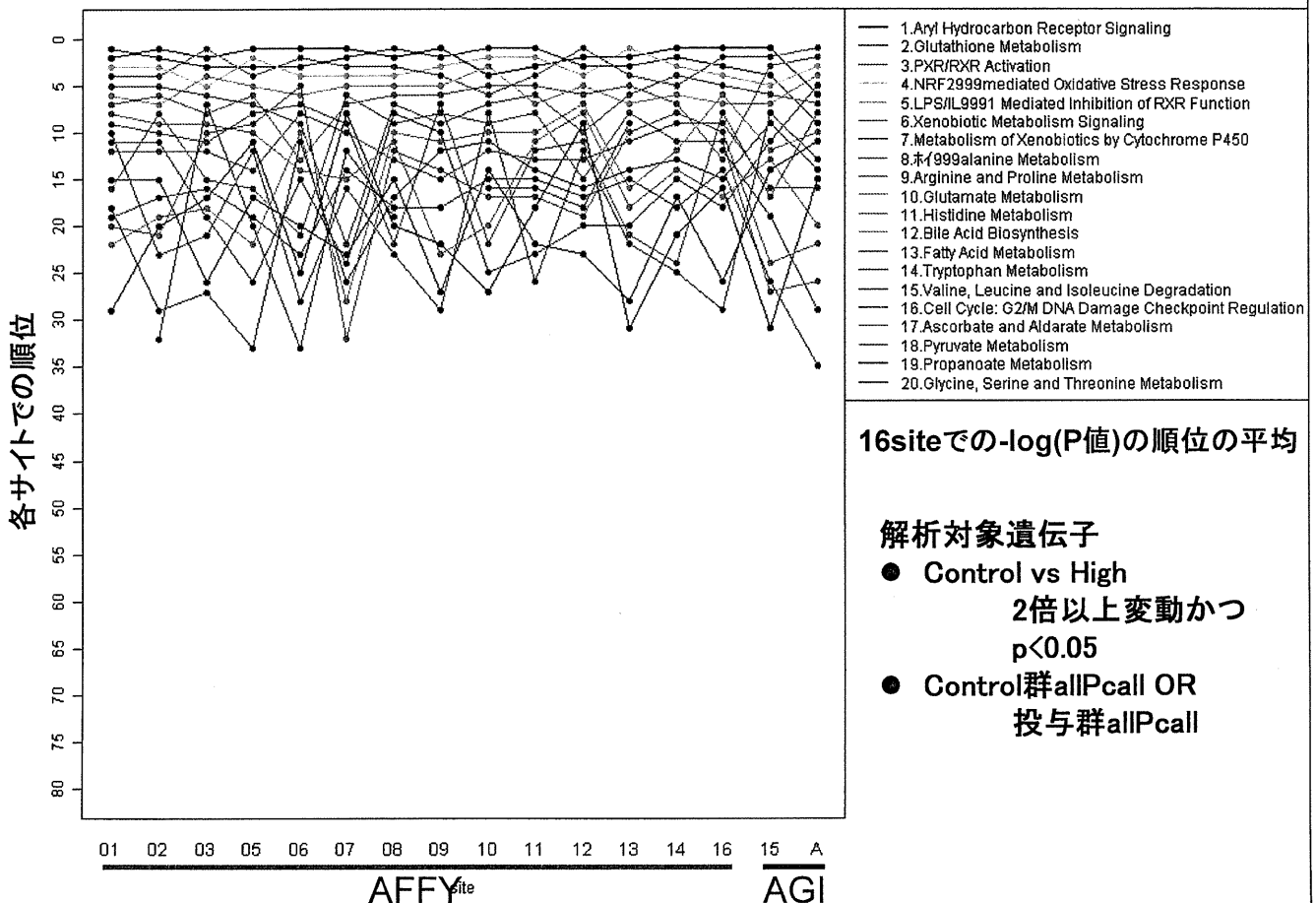
1398791\_at  
Txnrd1



# Pathway解析

- ・ 解析対象 probe set
  - Contrlo vs High (FC>=2 OR FC<=0.5) AND p<0.05
  - 各サイトごとに, Control群allPcall OR 投与群allPcall
- ・ IPA Canonical Pathway解析結果
  - 遺伝子数 $\geq 3$ のcanonical pathway
- ・ - log(p-value)による順位変動グラフ

16siteでの-log(P値)の順位の平均 1-20位/92Pathway中 (16 siteでplot)



# バリデーション試験の要約

- Affymetrix, Agilentともに施設内再現性, 施設間再現性がよかつた.
- Affymetrix, Agilentのプラットフォーム間比較においては, 発現値自体の相関は低いが, 対照群に対する発現比で表すと高い相関が見られた.
- 遺伝子ごとに検討すると, サイト間で共通して発現変動を示す遺伝子(2倍以上変動,  $p < 0.01$  or  $0.05$ )は60~80%程度であった. 一方, IPAのCanonical Pathwayによる解析で上位21位までにランクされたPathwayについては, その20 Pathwayが全サイトで選択された.
- 薬剤応答性遺伝子に関しては, 発現比を用いると異なるプラットフォーム間の比較も可能である.

## 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

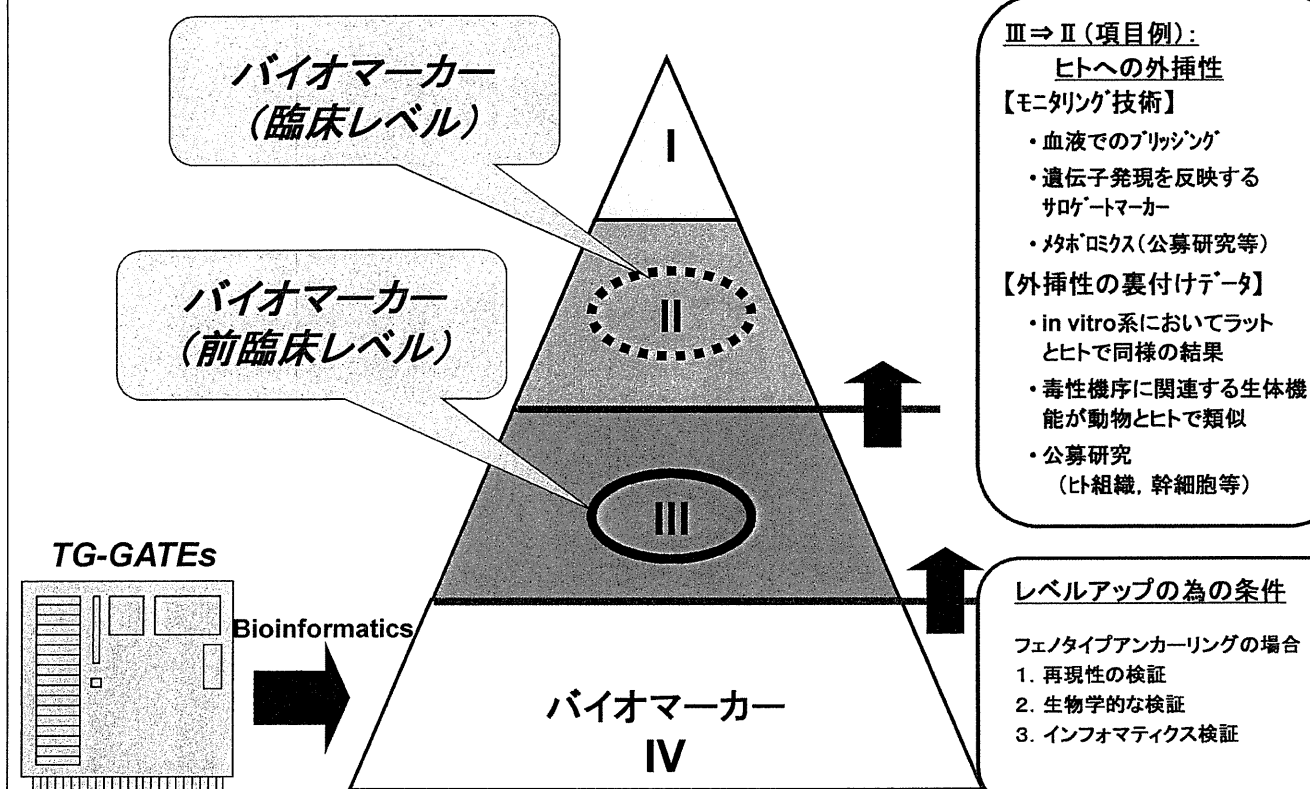
- 1) TGP1の成果(TG-GATEs)を活用してバイオマーカー候補を創出する: 目標 30種
- 2) トランスクリプトームおよびその解析の手法を用いて種差の壁に挑戦する
- 3) トキシコゲノミクス手法の施設間バリデーションを行い、レギュラトリーサイエンスへの応用の基盤を整備する

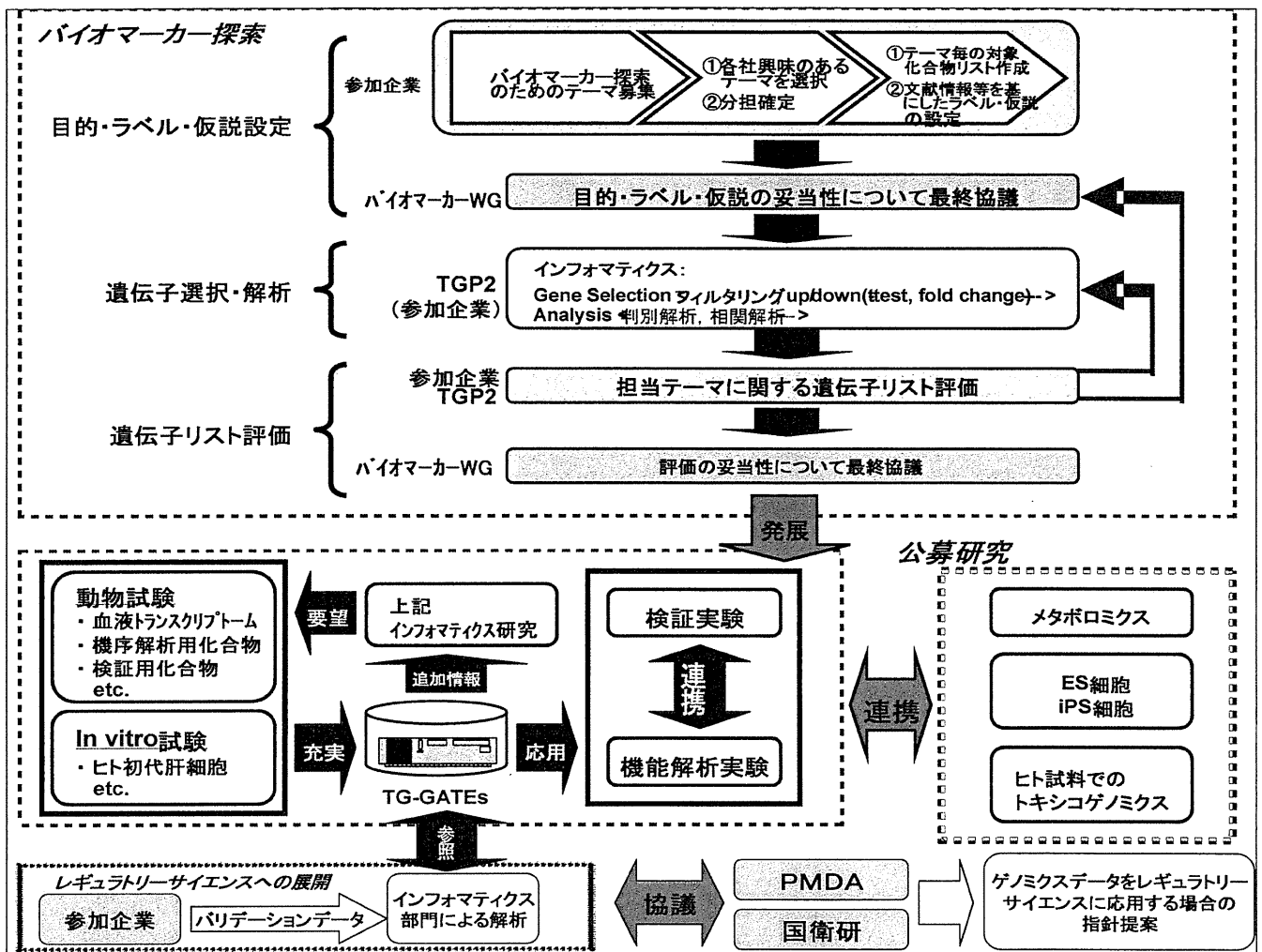
# バイオマーカーの定義 (FDA)

- 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学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





# バイオマーカーWGの構成

チームA: フェノタイプアンカーリング

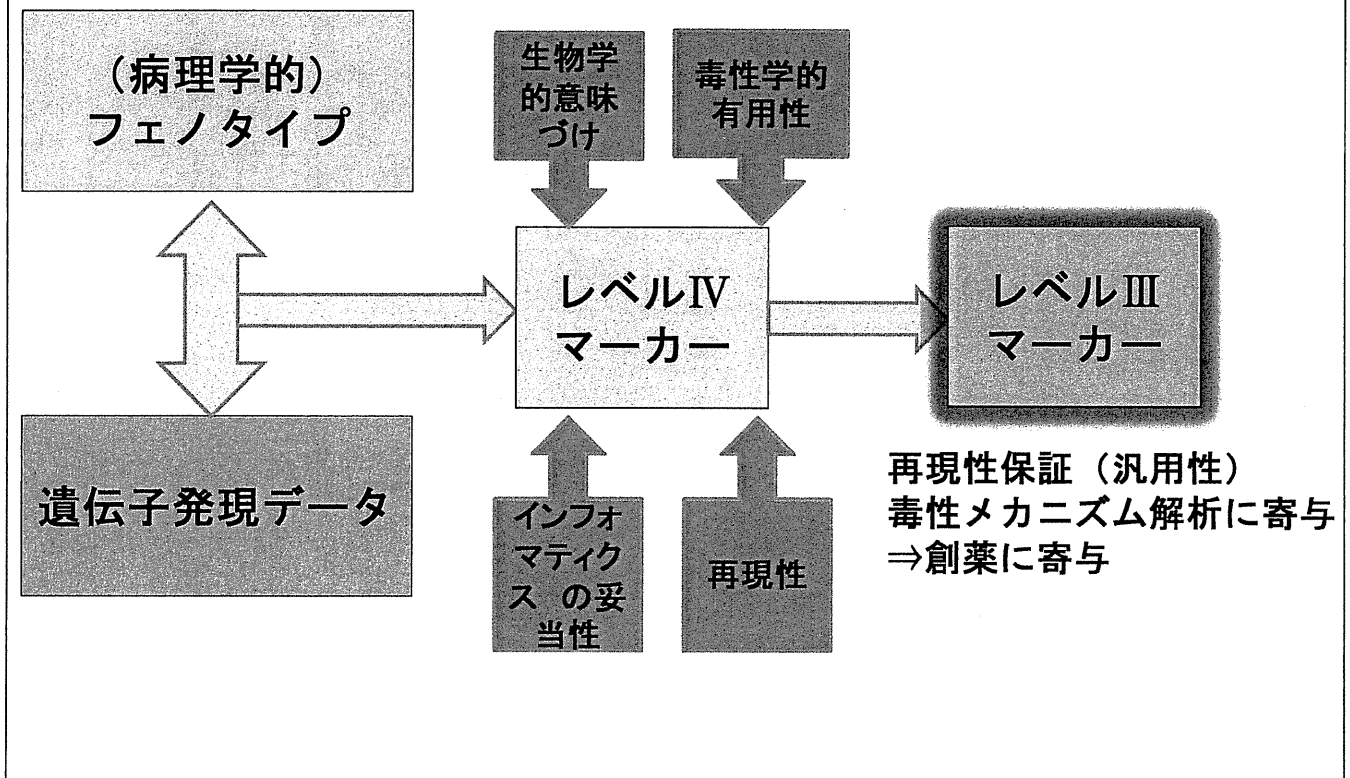
チームB: チームAのプロダクトの生物学的裏付け  
パスウェイ型マーカーの創出

チームC: 培養細胞

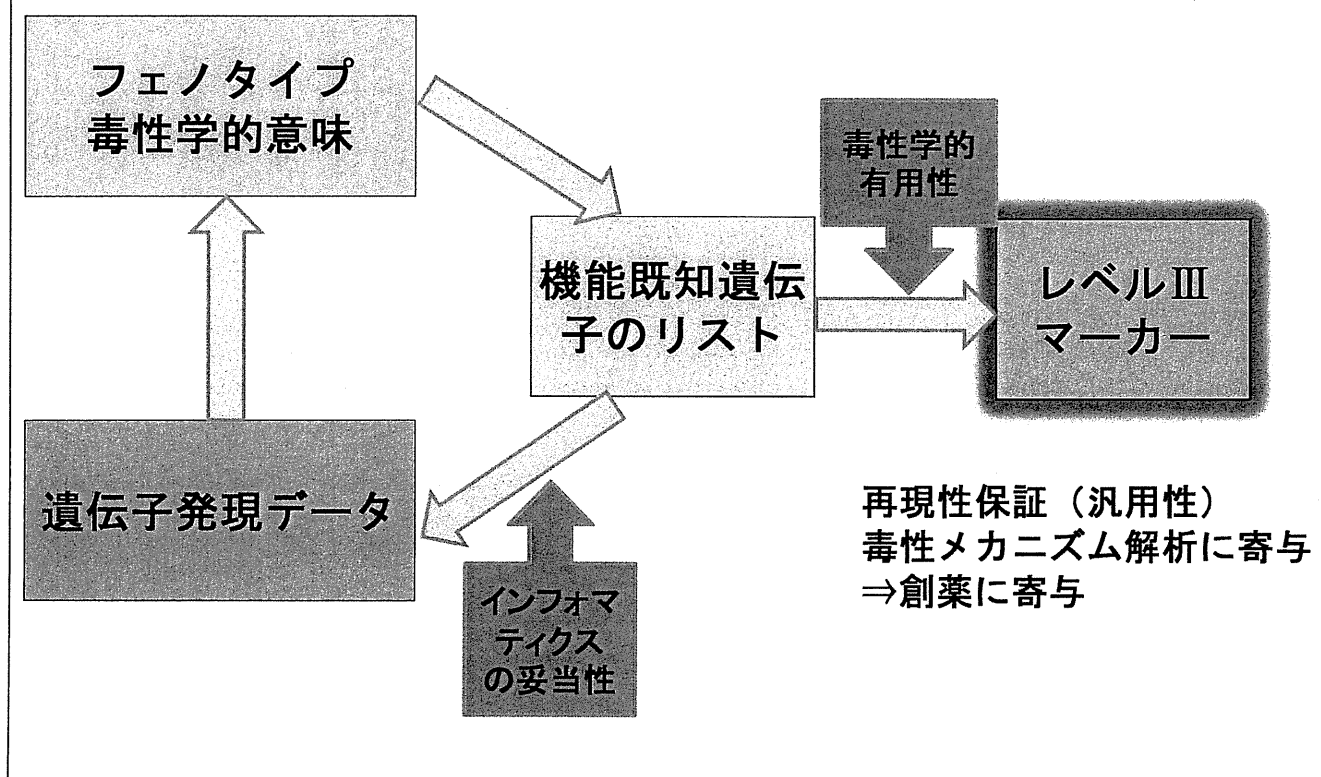
チームD: トランスクリプトーム以外の技術応用

チームE: プロダクトのシステムへの組込み

# バイオマーカー抽出のストラテジー (フェノタイプアンカリング型: チームA)



# バイオマーカー抽出のストラテジー (シグナルパスウェイ型: チームB)



レベルⅢ トランスクリプトミクスマーカー（フェノタイプアンカーリング型）

- 1 (1) 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
- 2 (2) ラット単回投与試験およびラット肝細胞で肝臓のPPAR $\alpha$ アゴニスト活性を評価する判別マーカー
- 3 (3) ヒト肝細胞で肝臓のPPAR $\alpha$ アゴニスト活性を評価する判別マーカー
- 4 (4) ラット反復投与試験で肝臓のリン脂質症を予測する判別マーカー
- 5 (5) ラット肝細胞で肝臓のリン脂質症を評価するスコアリングマーカー
- 6 (6) ラット反復投与試験で肝臓のデータから血液凝固不全を診断する判別マーカー
- 7 (7) ヒトおよびラット肝細胞(24時間曝露)で肝臓の小胞体ストレスを予測するための判別マーカー
- 8 (8) ラット単回及び反復投与試験で肝臓における遺伝毒性発がん作用を予測する判別マーカー
- 9 (9) ラット単回および反復投与試験で肝臓の壊死を予測する判別マーカー
- 10(10) ラット反復投与試験で肝臓の脂肪化を予測・診断する判別マーカー
- 11(11) ラット単回投与試験で腎臓の尿細管障害を予測する判別マーカー
- 12(12) 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
- 13(13) ラット単回及び反復投与試験の肝臓で骨髄抑制性貧血を診断するスコアリングマーカー
- 14(14) ラット反復投与試験で肝臓における細胞障害型遺伝毒性及び非遺伝毒性発がん作用を予測する判別マーカー
- 15(15) ラット単回投与試験で肝臓における細胞障害型遺伝毒性及び非遺伝毒性発がん作用を予測する判別マーカー
- 16(16) ラット単回及び反復投与試験で腎臓の乳頭障害を予測・診断する判別マーカー
- 17(17) ラット反復投与試験（15あるいは29日目）で肝臓の発がん性を予測する判別マーカー
- 18(18) ラット単回投与試験（24時間目）で肝臓のリン脂質症を予測する判別マーカー
- 19(19) ラット反復投与試験（8日目以降）で肝臓の胆管増生を診断・予測する判別マーカー
- 20(20) ラット単回および反復投与試験の全血で肝臓の壊死を診断するためのスコアリング用途マーカー

レベルⅢ トランスクリプトミクスマーカー（シグナルパスウェイ型）

- 1(21) ラット単回および反復投与試験で肝臓の壊死を評価するためのp53, TNF $\alpha$ メカニズムに基づいたスコアリング用途マーカー
- 2(22) 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
- 3(23) ラット反復投与試験で肝臓の酵素誘導型小胞体増生を診断する判別マーカー
- 4(24) ラット反復投与試験で肝臓の線維化（炎症背景）を評価するためのスコアリング用途マーカー
- 5(25) ラット反復投与試験で肝臓の線維化（線維形成背景）を評価するためのスコアリング用途マーカー
- 6(26) ラット単回および反復投与試験で肝臓の糖代謝活性低下を評価するためのスコアリング用途マーカー
- 7(27) ラット単回および反復投与試験で肝臓の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
- 8(28) ラット単回および反復投与試験で肝臓の細胞増殖活性を評価するためのスコアリング用途マーカー
- 9(29) ラット単回および反復投与試験で肝臓の脂質代謝活性亢進の分子メカニズムを評価するための診断マーカー
- 10(30) *i*-Compass
- 11(31) ラット単回投与試験で肝臓の小胞体ストレスを評価するためのスコアリング用途マーカー
- 12(32) ラット単回投与試験で肝臓の酸化ストレスを評価するためのスコアリング用途マーカー

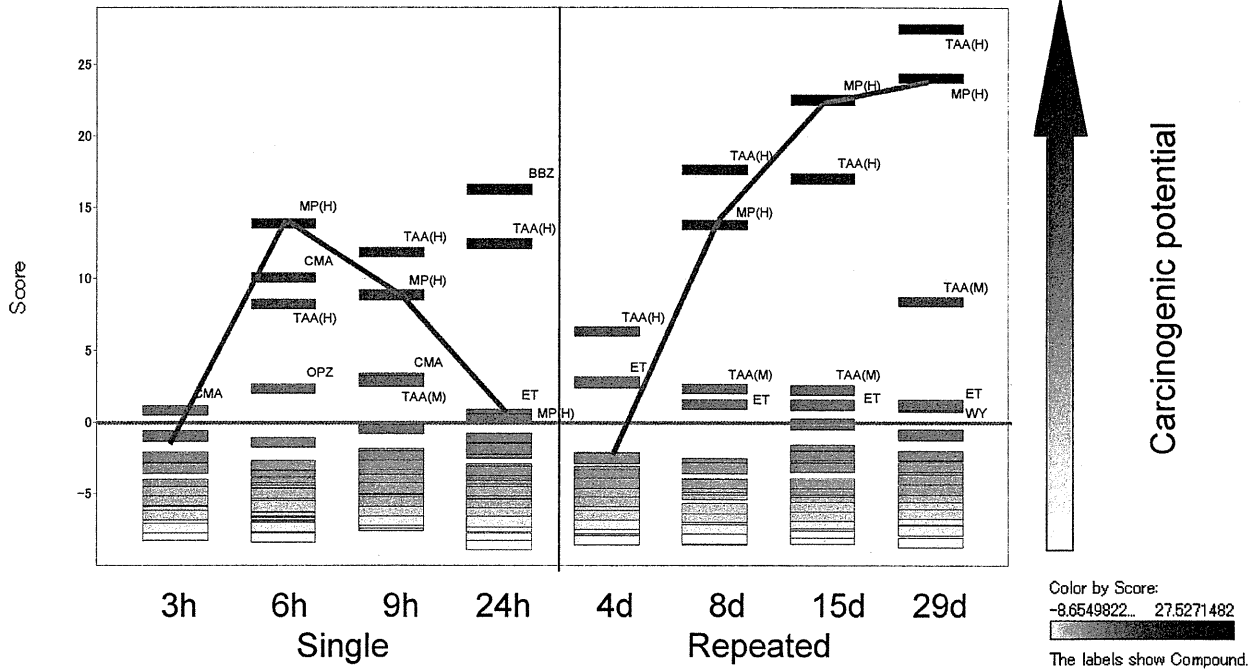
レベルⅠ～Ⅲマーカー（その他）

- 1(33) ラット単回および反復投与試験の血漿で腎臓の障害を診断するメタボノミクスマーカー
- 2(34) ラット単回投与試験で肝臓のグルタチオン枯渇に起因する肝障害を診断する臨床適用可能なメタボノミクスマーカー（レベルⅡ）
- 3(35) ラット単回投与試験で肝臓の障害を予測する臨床適用可能なメタボノミクスマーカー（レベルⅠ）
- 4(36) ラット単回投与試験で肝臓の壊死を診断する血漿中肝臓特異的mRNAバイオマーカー

# 非遺伝子傷害性発がん物質予測 (PAM)

122 probe sets

Prediction Score < 0 : Negative  
0 < Prediction Score : Positive



Uehara et al., Toxicology 250:15- 2008



Contents lists available at ScienceDirect  
**Toxicology and Applied Pharmacology**  
Journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ytaap](http://www.elsevier.com/locate/ytaap)

Predicting the hepatocarcinogenic potential of alkenylbenzene flavoring agents using toxicogenomics and machine learning

Scott S. Auerbach<sup>a</sup>, Ruchir R. Shah<sup>b</sup>, Deepak Mav<sup>b</sup>, Cynthia S. Smith<sup>a</sup>, Nigel J. Walker<sup>a</sup>, Molly K. Vallant<sup>a</sup>, Gary A. Boorman<sup>a</sup>, Richard D. Irwin<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences, NIH, RTP, NC 27709, USA  
<sup>b</sup> SRA Inamed Inc., RTP, NC 27709, USA

Toxicol Appl Pharmacol. 2010 Mar 15;243(3):300-14.

**Table 6**  
Cumulative error rates for optimal models and published signatures.

Model	2-day FA data <sup>a</sup>	14-day FA data <sup>a</sup>	90-day FA data <sup>a</sup>	All FA data
2-day optimal model	0.27	0.25	0.14	0.21
14-day optimal model	0.47	0.27	0.13	0.26
90-day optimal model	0.29	0.24	0.12	0.20
2 + 14-day optimal model	0.18	0.23	0.15	0.18
2 + 90 day optimal-model	0.26	0.24	0.15	0.21
14 + 90 day optimal-model	0.21	0.21	0.10	0.16
2 + 14 + 90 day optimal-model	0.21	0.19	0.12	0.16
Fielden, 2007, signature	0.30	0.35	0.23	0.28
Ellinger-Ziegelbauer, RFF, 2008, signature	0.30	0.27	0.12	0.21
Uehara, 2008, signature	0.40	0.32	0.14	0.26
Nakayama, 2000, signature	0.15	0.15	0.10	0.13

<sup>a</sup> Only SAF-H, ESC-H, ESC-L, EGN-L, EGN-H, IEG-H, IEG-L, TC, and UTC were considered when calculating cumulative error rates.

**Table 5**  
All optimal model cumulative incidence of hepatocarcinogen classification of the 90-day FA samples.

Class	Treatment	Dose level	All optimal model cumulative incidence of "hepatocarcinogen" classification
Hepatocarcinogens	ESC	L	31/70
		H	70/70
	MEG	L	65/70
		H	70/70
	SAF	L	9/70
		H	70/70
Non-hepatocarcinogens	ANT	L	1/70
		H	0/70
	EGN	L	0/70
		H	0/70
	IEG	L	0/70
		H	0/70
	TC	X	0/126
		UTC	X
Untested	ISF	L	3/70
		H	30/70
	MYR	L	0/63
		H	24/70





# バイオマーカー探索に関連した諸研究

- ・ ラット肝二段階発がんモデルを用いた肝発がんの分子毒性学的研究
- ・ 肝発がん物質のイニシエーション活性の検索
- ・ グルタチオン抱合不全ラット原因究明
- ・ 血中miRNAのバイオマーカーとしての可能性検討
- ・ DNAメチル化の網羅的解析
- ・ 糖鎖プロファイル
- ・ メタボロミクス（慶応大学・曾我先生へ委託）
- ・ サイトカインを指標としたバイオマーカー探索
- ・ In vitro試験における溶媒の影響

O-8

TGP2 Toxicogenomics Informatics Project in Japan



厚労省科研費(H19-トキシコ-指定-001「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」、H14-トキシコ-指定-001「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」)

## 血漿中miRNAの網羅的解析による 肝障害バイオマーカー創出の取り組み

2010年 トキシコロジー学会学術年会（沖縄）

○神吉将之<sup>1</sup>、太田聖子<sup>2</sup>、上西千晶<sup>2</sup>、南圭一<sup>3</sup>、中津則之<sup>2</sup>、五十嵐芳暢<sup>2</sup>、堀之内彰<sup>4</sup>、小野敦<sup>5</sup>、山田弘<sup>2</sup>、漆谷徹郎<sup>2,6</sup>、大野泰雄<sup>5</sup>

1: アステラス製薬株式会社 安全性研究所 分子毒性研究室

2: 独立行政法人 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

3: 小野薬品工業株式会社 研究本部 福井研究所 安全性研究部

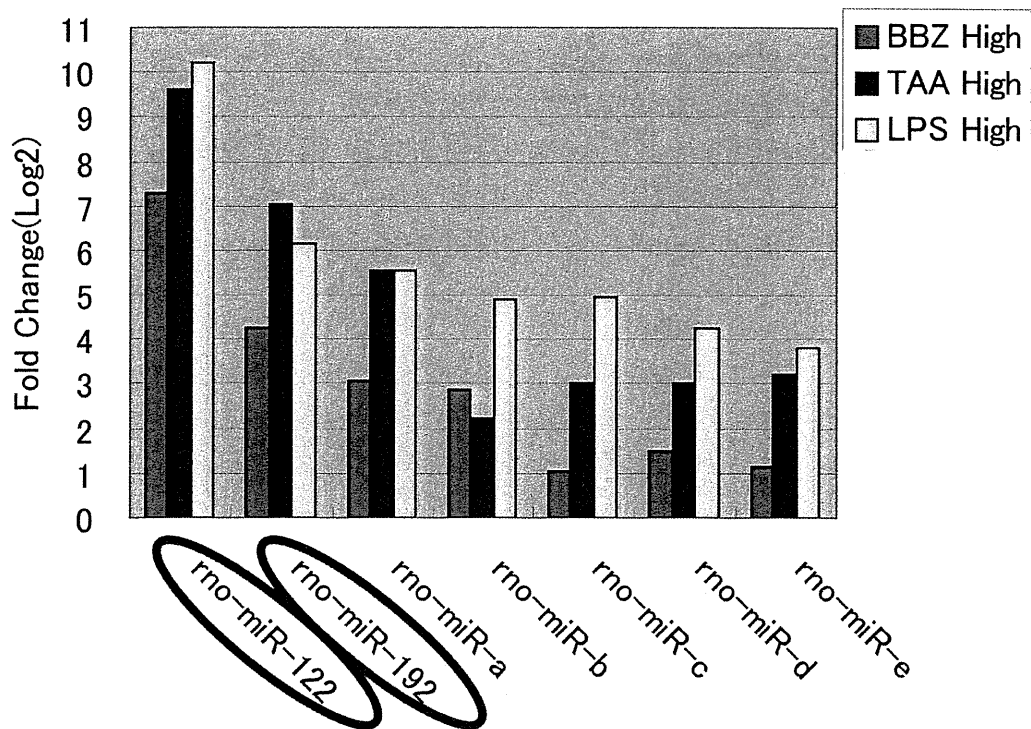
4: 武田薬品工業株式会社 開発研究センター

5: 国立医薬品食品衛生研究所

6: 同志社女子大学 薬学部

◆薬剤誘発性肝障害血漿中microRNAマーカー候補

BBZとTAAの両化合物で共通して2倍以上の増加が確認されたmiRNA: 計7miRNAs



▶miR-122, 192についてReal Time PCRによる検証を実施した。

## 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

## レベルⅣに留まり、Ⅲに至らなかった例

### ラット連続投与において血中中性脂肪低下機序を判定するマーカー

K. Omura, N. Kiyosawa, T. Uehara, M. Hirode, T. Shimizu, T. Miyagishima, A. Ono, T. Nagao, T. Urushidani. Gene expression profiling of rat liver treated with serum triglyceride-decreasing compounds. J. Toxicol. Sci. 32: 387-399, 2007.

- 連続投与により血中中性脂肪が低下した15化合物に関して、連続投与4時点、全用量のデータを用い、Welch's ANOVA/t-testにより遺伝子を選択し、15化合物のうち少なくとも10化合物で変化した218プローブセットに絞り込んだ
- これによってPCAを行うと、2次元上で、2方向に分離し、3つのクラスター（PPAR $\alpha$ 活性化、CARの活性化、その他）に分かれた。
- CARの活性化による中性脂肪低下の機序として、CARで誘導される酵素群による甲状腺ホルモンの分解が考えられた。

