

# 将来的な課題

## Idiosyncrasy

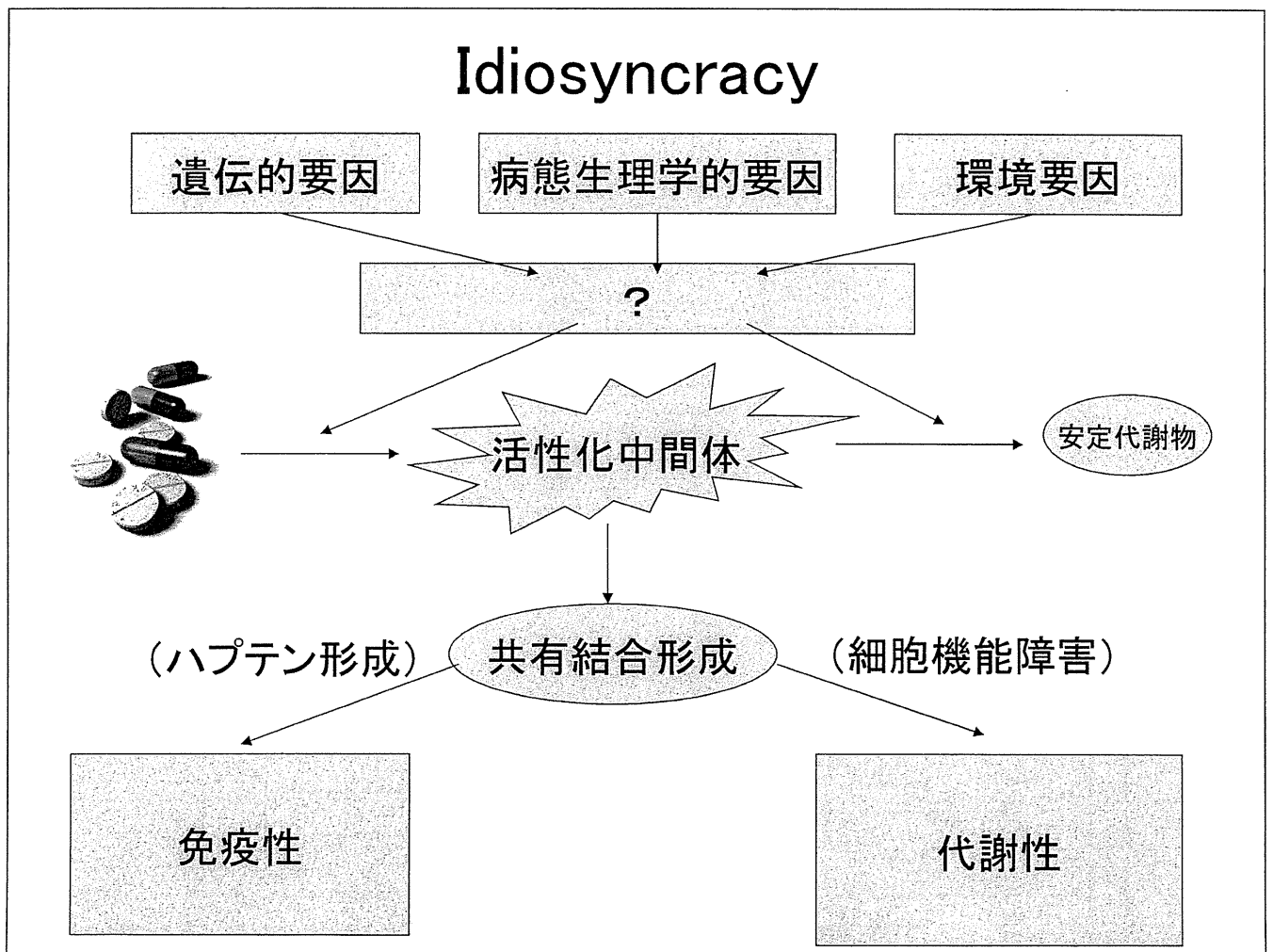
- ・ Dose independent, unpredictable
- ・ 1/1,000 ~ 1/100,000

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?

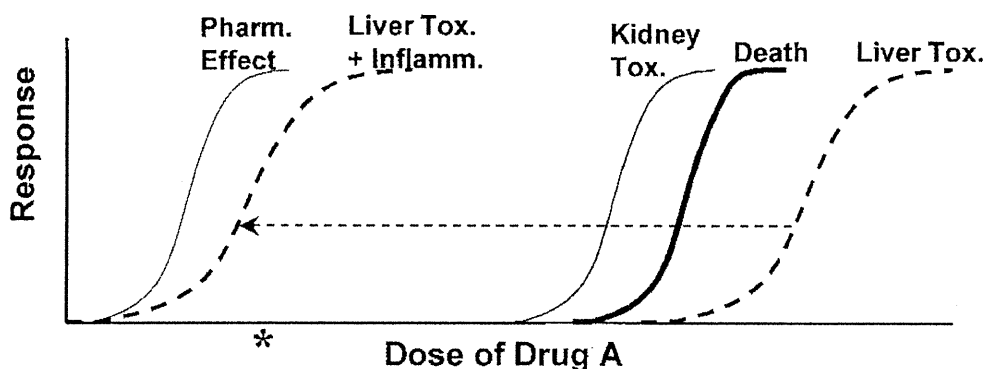
ROBERT A. ROTH, JAMES P. LUYENDYK, JANE F. MADDOX, and PATRICIA E. GANEY

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

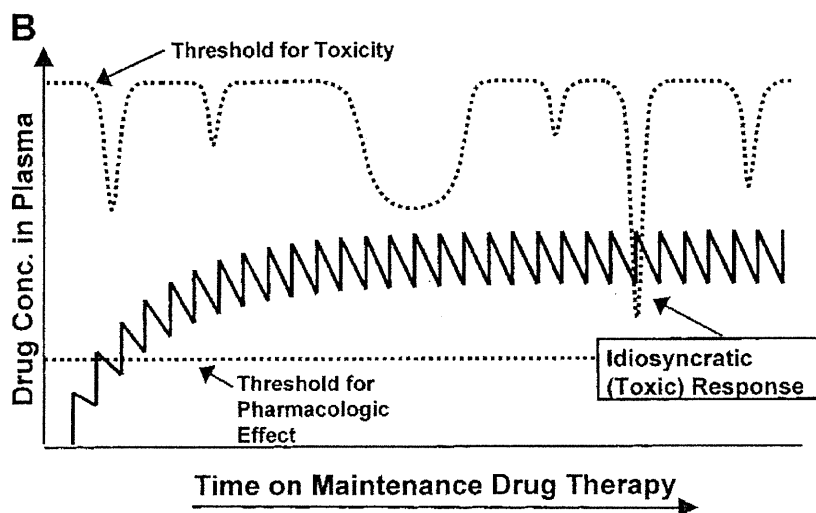
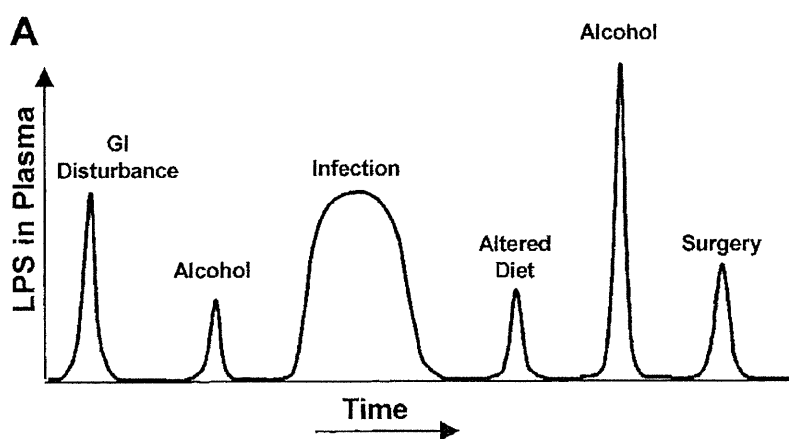
Received June 4, 2003; accepted July 1, 2003

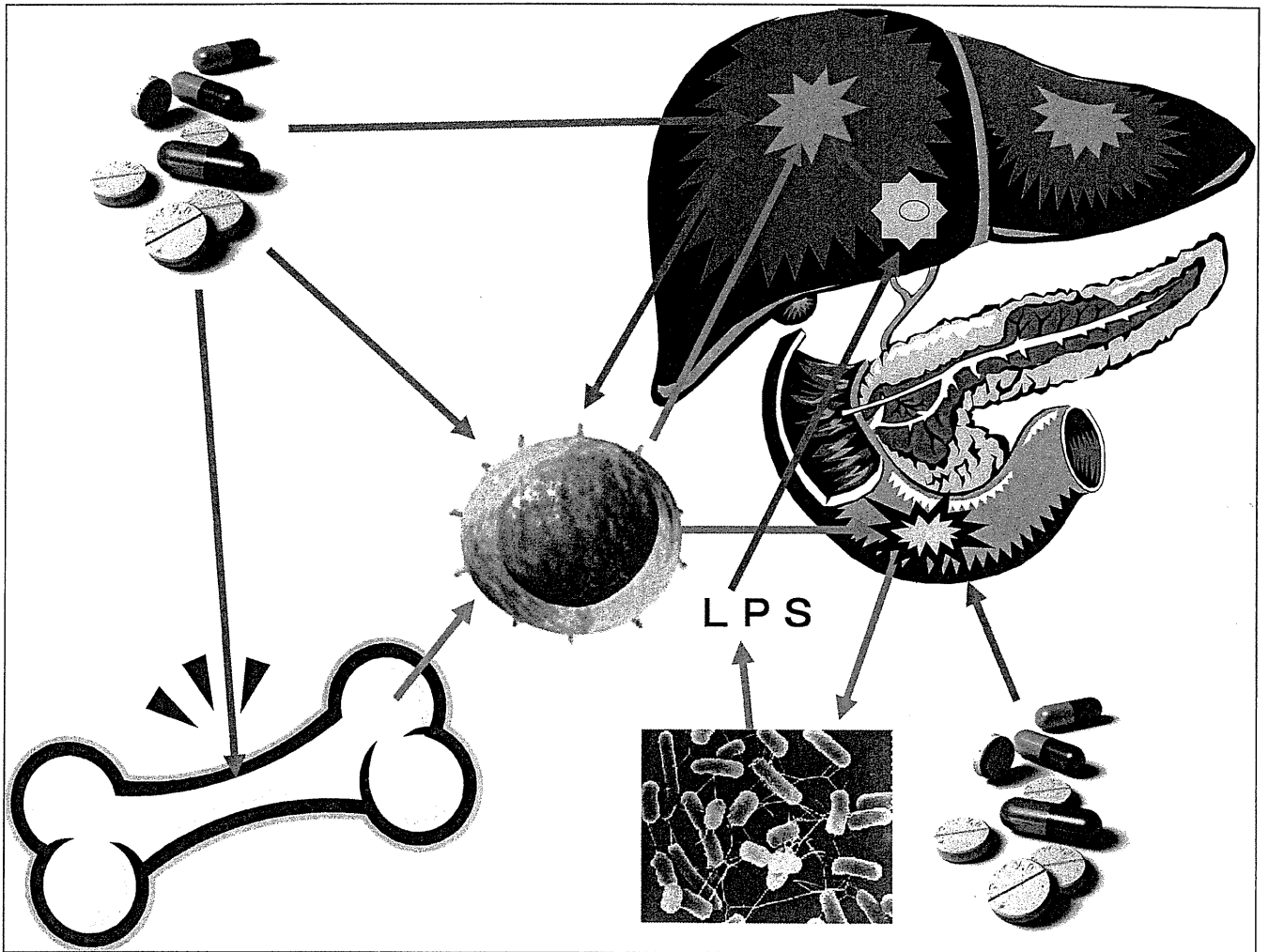
### ABSTRACT

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



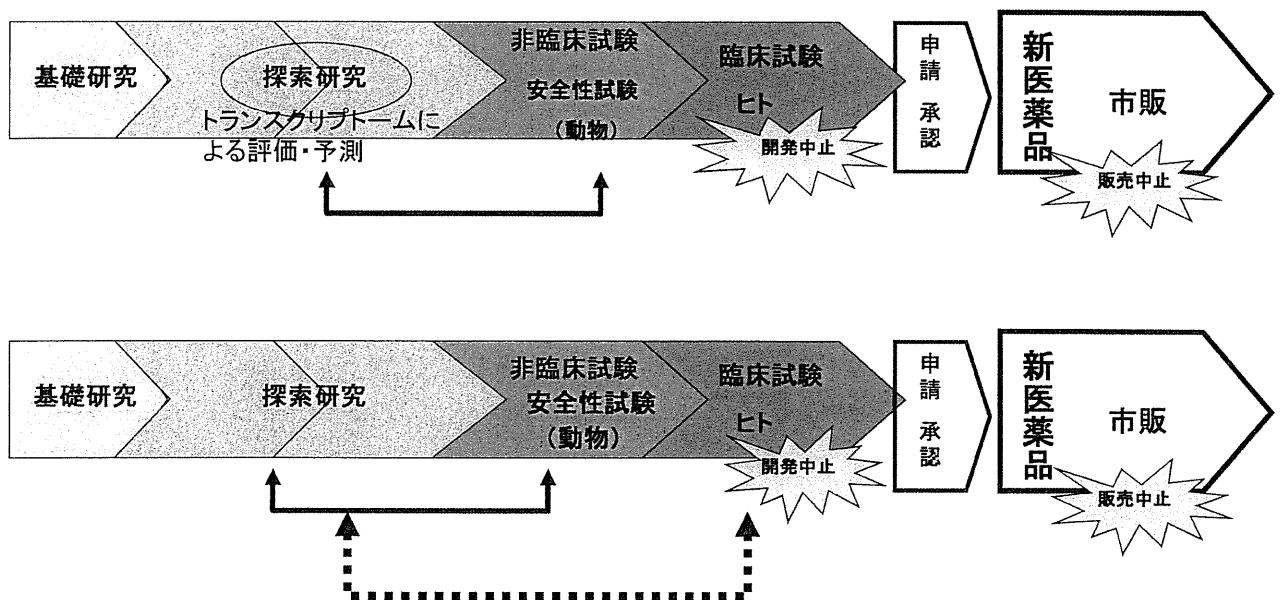
Commonplace als indicate tissue senations have ation during toxicity and eaction that ' response). idiosyncrasy d results of /ledge gaps d be widely





## 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

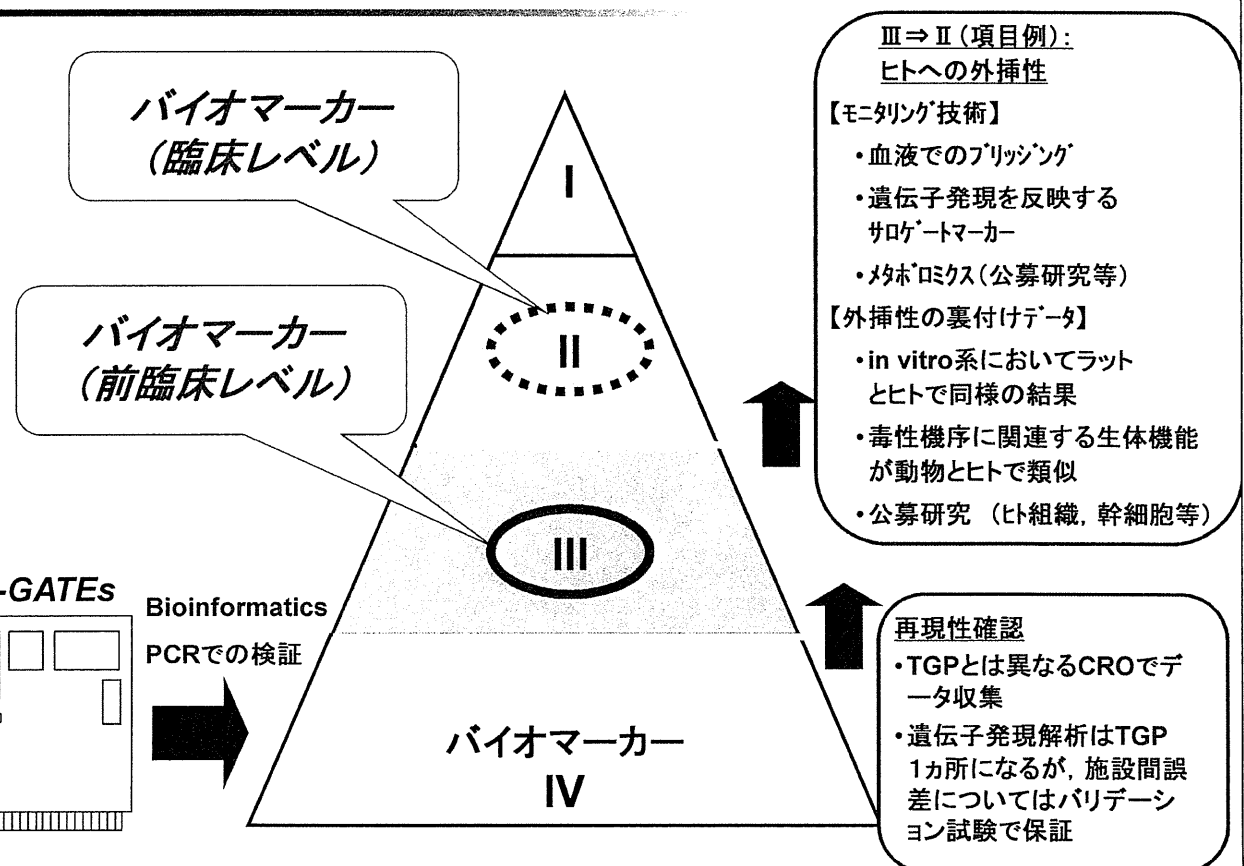
国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室  
小野 敦

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

Toxicogenomics Informatics Project in Japan

TGP2 TG-GATES



# 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

## 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

※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

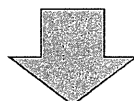
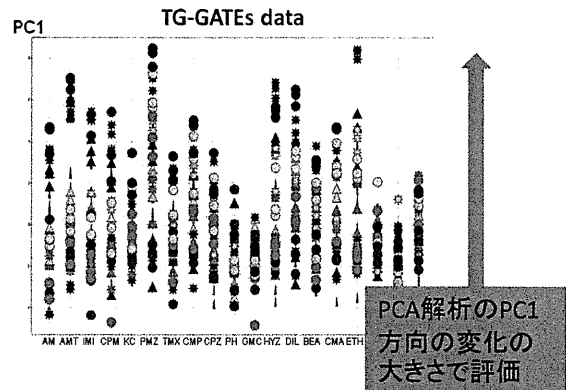
# TGP初期のバイオマーカー探索

## 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

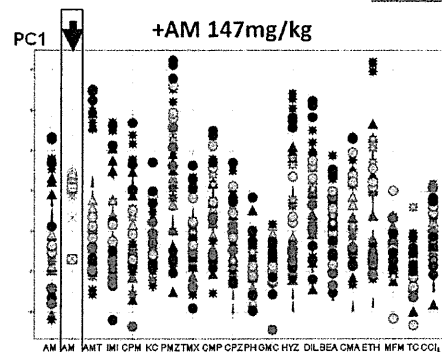
### 初期モデルの構築

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

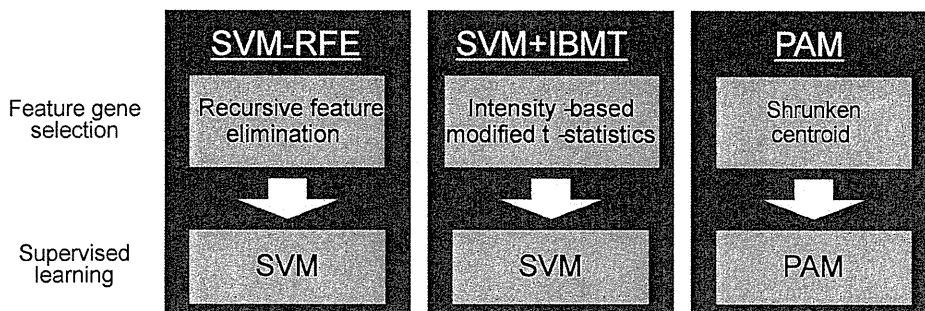


# 病理型バイオマーカーⅢのクライテリア(アップデート)

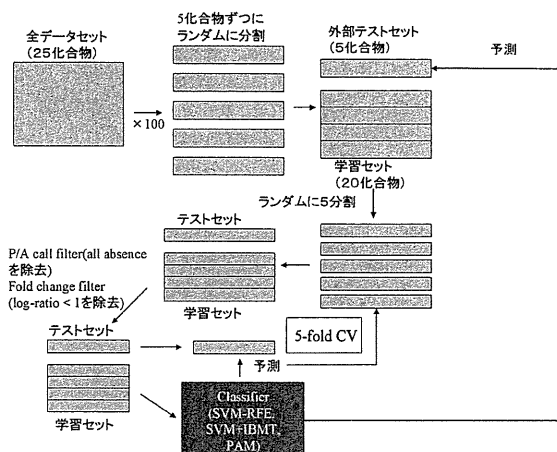
- 再現性検証
  - TGPデータあるいは自社データを使用して、十分なデータセットでトレーニング/テスト(再現性を含む)を実施して構築したバイオマーカー(判別モデル)である
- 生物学的検証
  - 生物学的にトレーニング/テストセットの判別結果の妥当性が主張できる
  - 判別モデルの場合、予測精度(%)にクライテリアは設けませんが、従来法と比較して有用性を主張できるレベルである
  - 選抜した遺伝子について、バイオマーカーとしての生物学的な妥当性が主張できる(ことが望ましい)
- インフォマティクス検証
  - 解析操作上での判別モデル構築/バイオマーカー選抜の再現性に問題がない
  -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

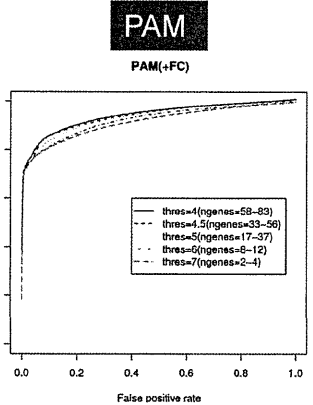
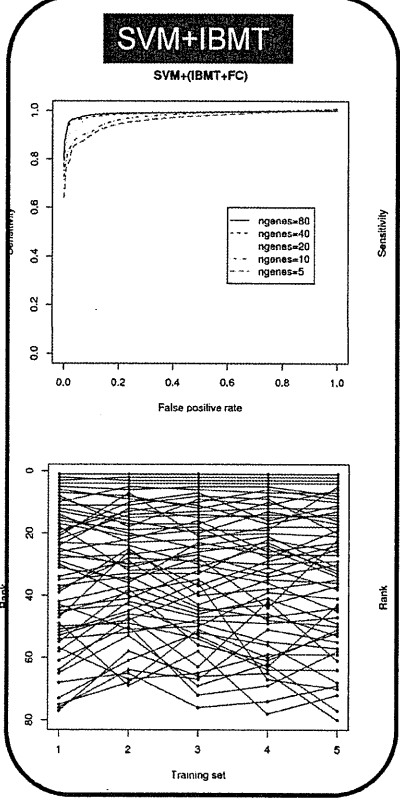
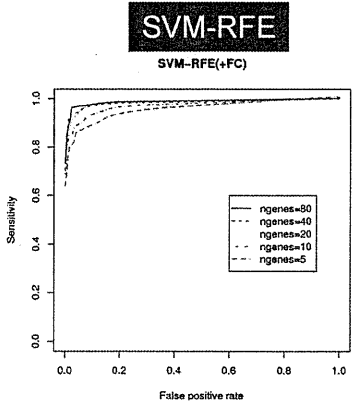


- トレーニング及びテストセット予測  
- 5foldクロスバリデーションを繰り返して最適モデルを構築

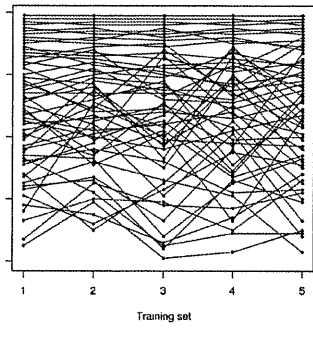
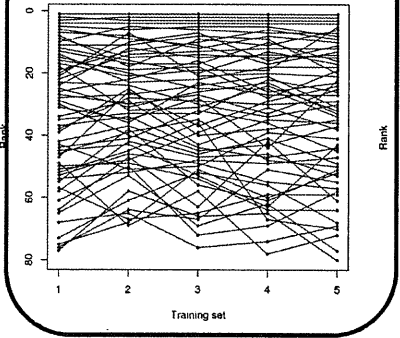
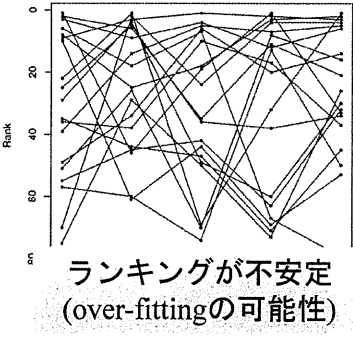


# インフォマティクス: マーカー遺伝子抽出及び判別モデル作成の例

## ROC解析による評価



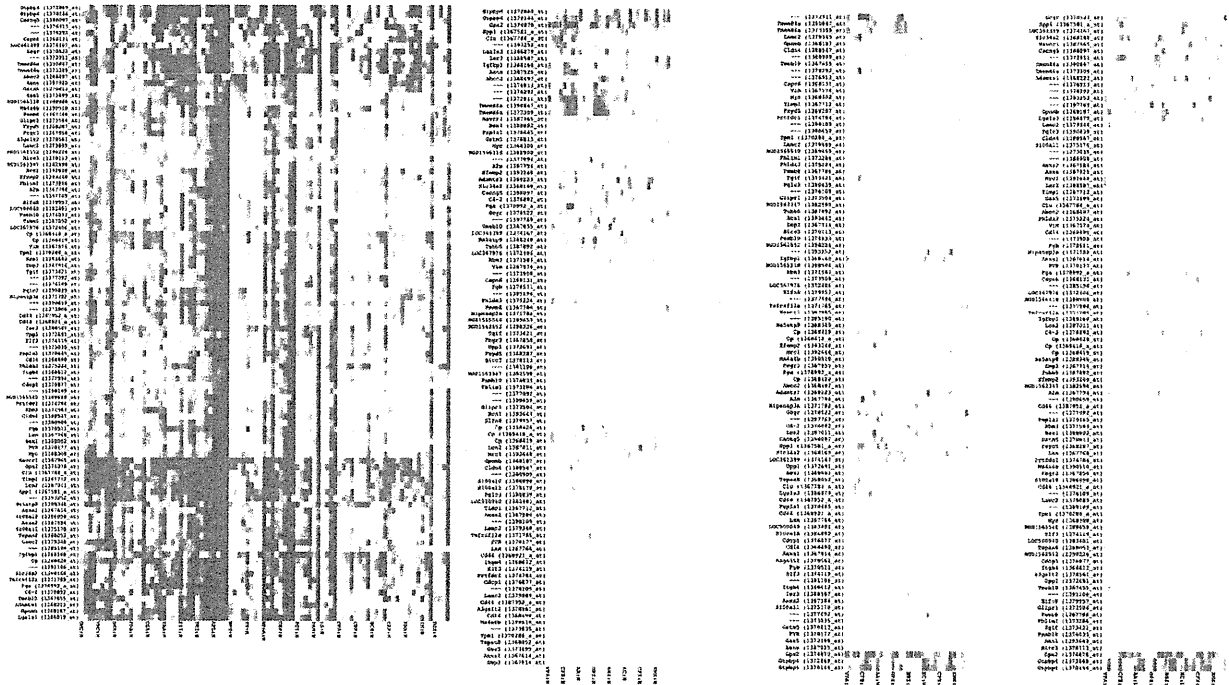
## Feature gene ranking



## 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

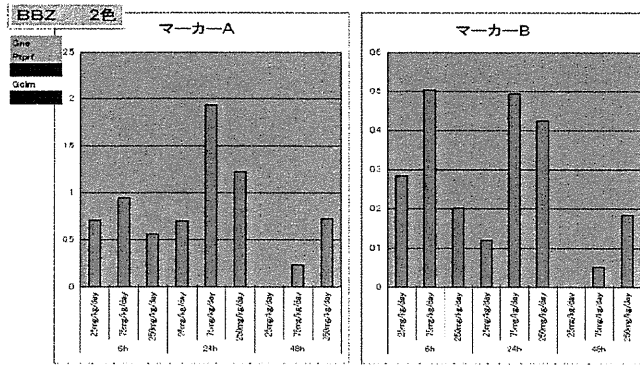
Toxicology 265 (2009) 15-26



## 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) |
|--|----|------------|-----------|----------|
| テニール酸<br><small>Tenilol, 1988<br/>4:623-91-9</small>                                     | あり | 0          | 0         | 0        |
|  |    | 300        | 2         | 3        |
|  |    | 1000       | 3         | 3        |
| ネファゾドン<br><small>Nefazodon Med. 1999<br/>Feb 16;130(4 Pt 1):285-9</small>                | あり | 0          | 0         | 0        |
|  |    | 300        | 3         | 1        |
|  |    | 1000       | 3         | 3        |
| アモジアキン<br><small>Amiodiphenol (Cin Res Ed.)<br/>1986 Mar<br/>15;29(15):221-721-3</small> | あり | 0          | 0         | 0        |
|  |    | 100        | 1         | 1        |
|  |    | 300        | 2         | 1        |
| ピオグリタゾン<br><small>Pioglitazone, volume 33,<br/>Issue 4, 1009-1013, 2001</small>          | なし | 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

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

脂肪化ポジ3化合物  
(CCl4, IMI, HYZ)

脂肪化ネガ化合物  
(10化合物)

60

高脂肪食マーカー

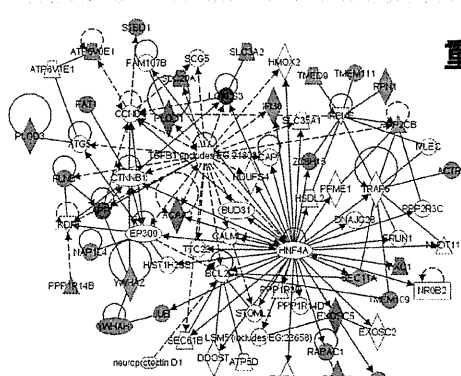
| ポジリスト | ネガリスト | プローブ数 |
|-------|-------|-------|
|-------|-------|-------|

高脂肪食  
(3, 7, 14, 28days)

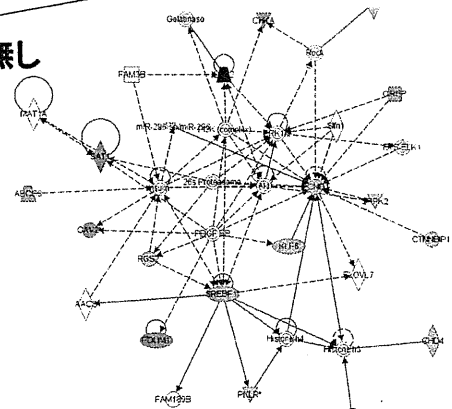
脂肪化ネガ化合物  
(10化合物)

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？

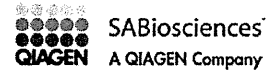
## ラット反復投与試験で肝臓のリン脂質症を予測するスコアリングマーカ

### 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

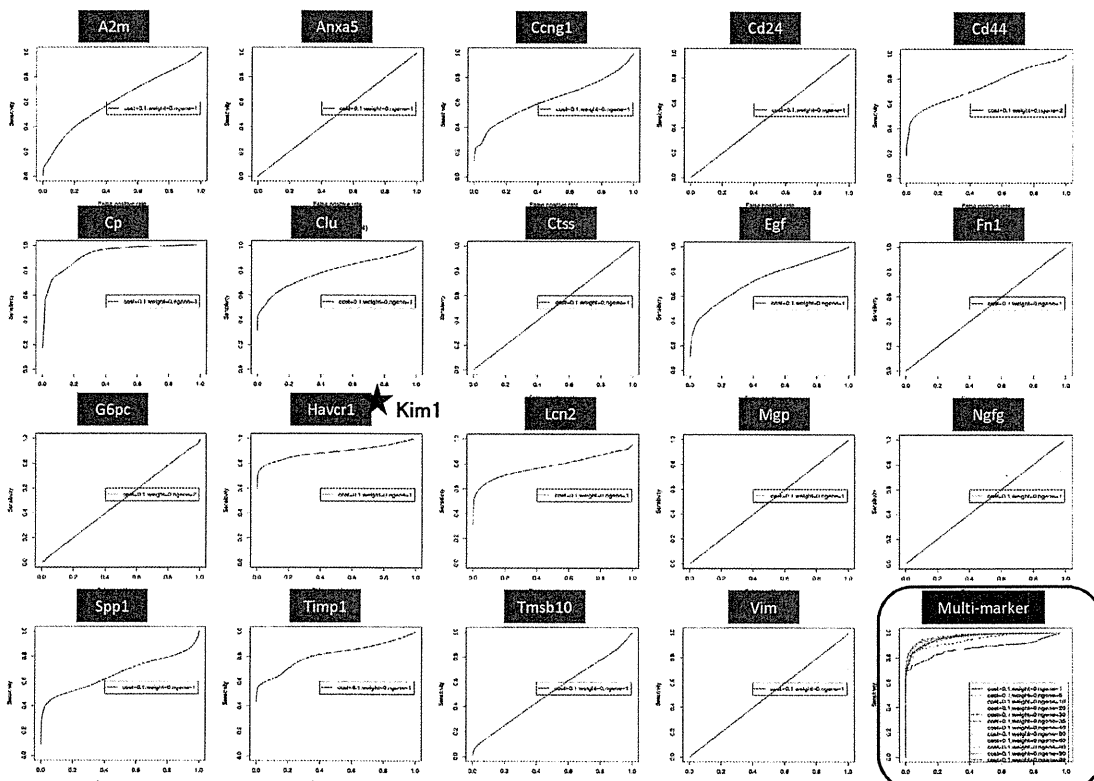
Rat

**Rat Molecular Toxicology PathwayFinder PCR Array**

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

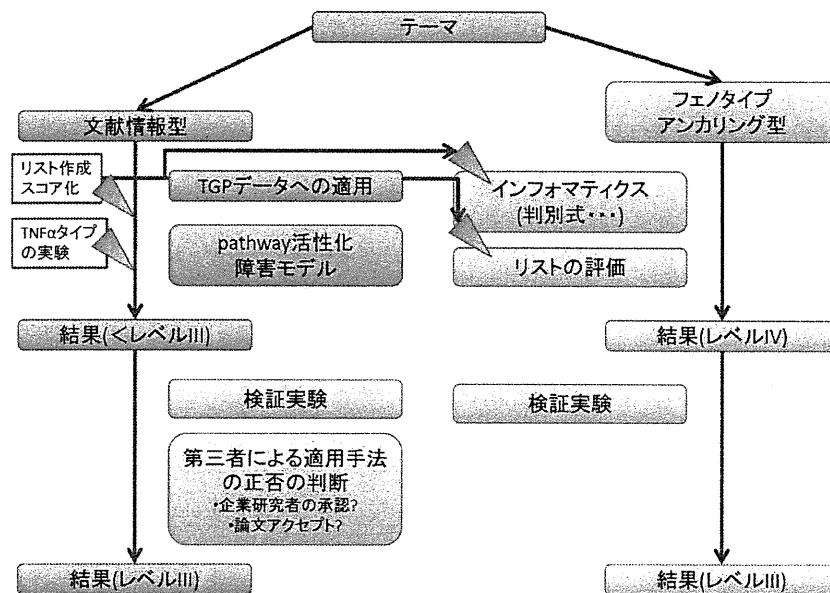
[http://www.sabiosciences.com/rt\\_pcr\\_product/HTML/PARN-3401A.html](http://www.sabiosciences.com/rt_pcr_product/HTML/PARN-3401A.html)

## 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

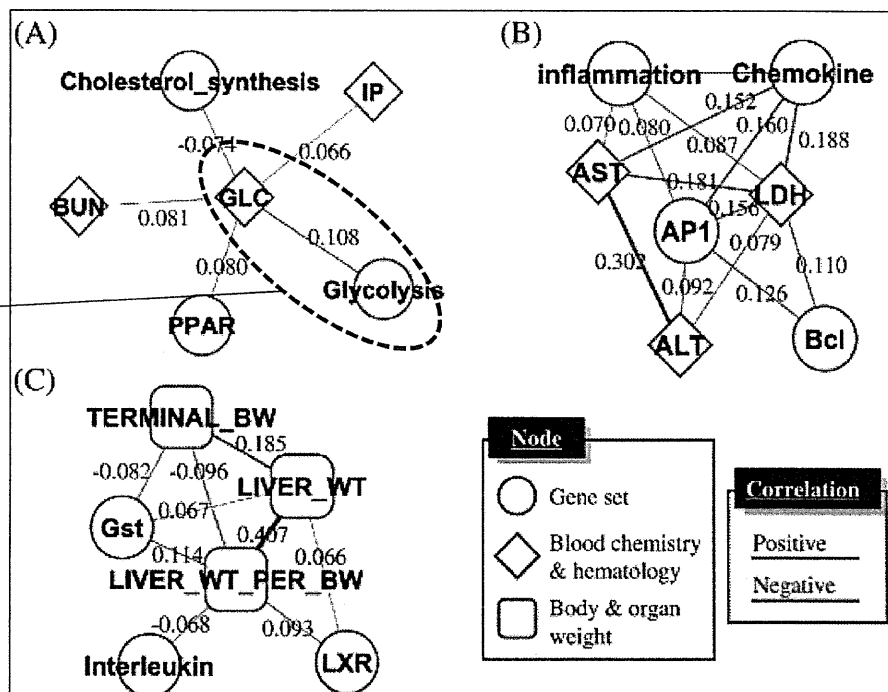


Level IV: メカニズム等から作成したマーカー候補がTGPデータに適用可能  
 (化合物投与による変動が認められ、メカニズムへの作用が評価可能)  
 Level III: 毒性学的な意義付けが可能

## 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

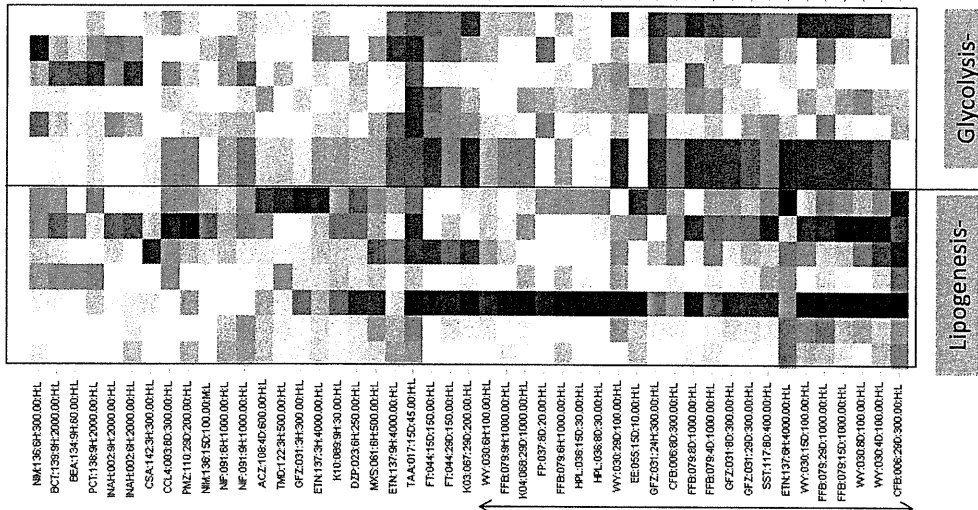


# 糖代謝活性及び低下脂肪酸生合成能を評価するためのスコアリング用途マーカー

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

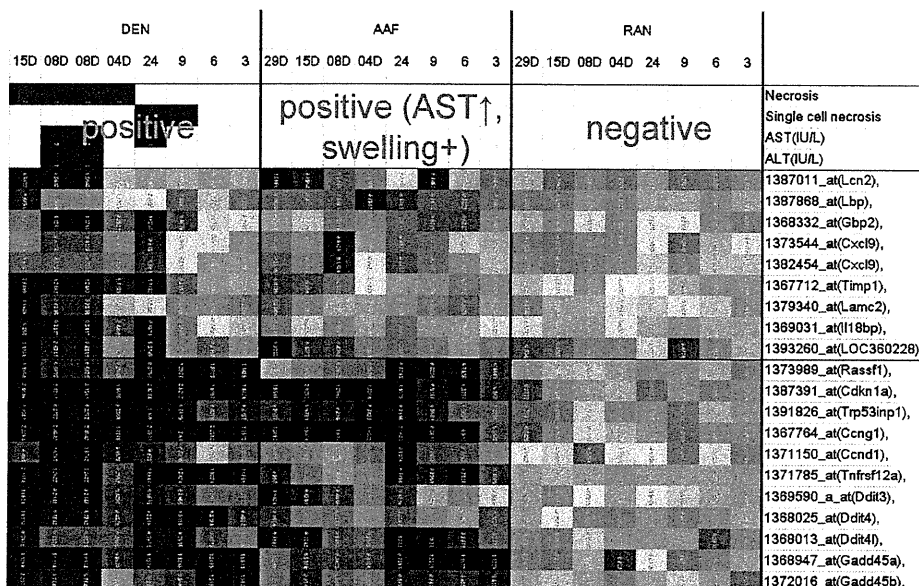
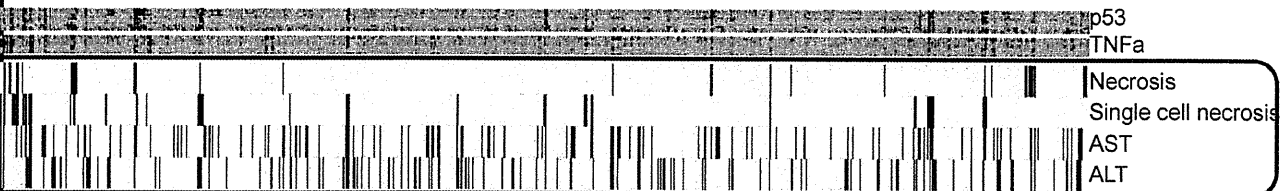


PPARα活性化剤が多い

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, TNFα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



## 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



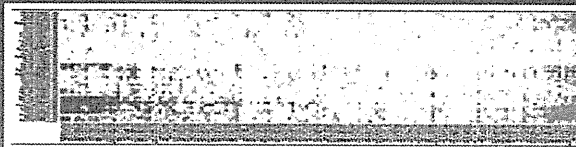
### 検討内容

チームB  
遺伝子リスト  
(機能既知)

病理所見  
(表現型)との  
リンク

結果検証  
活用考案

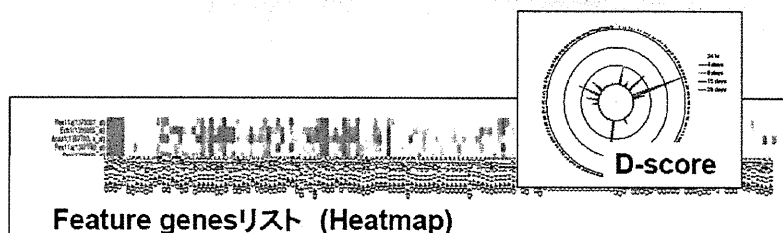
#### ペルオキシソーム局在蛋白の遺伝子リスト(チームB)



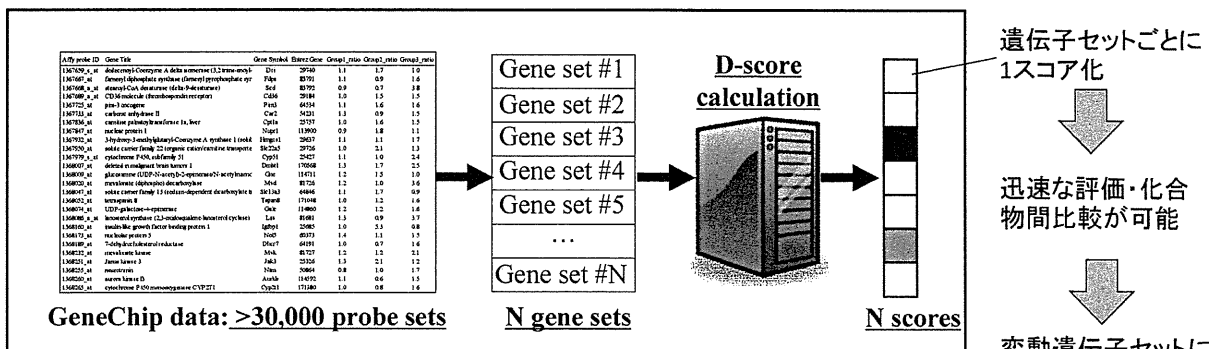
#### 病理所見に基づいた判別分析によるリストの洗練化

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



## 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

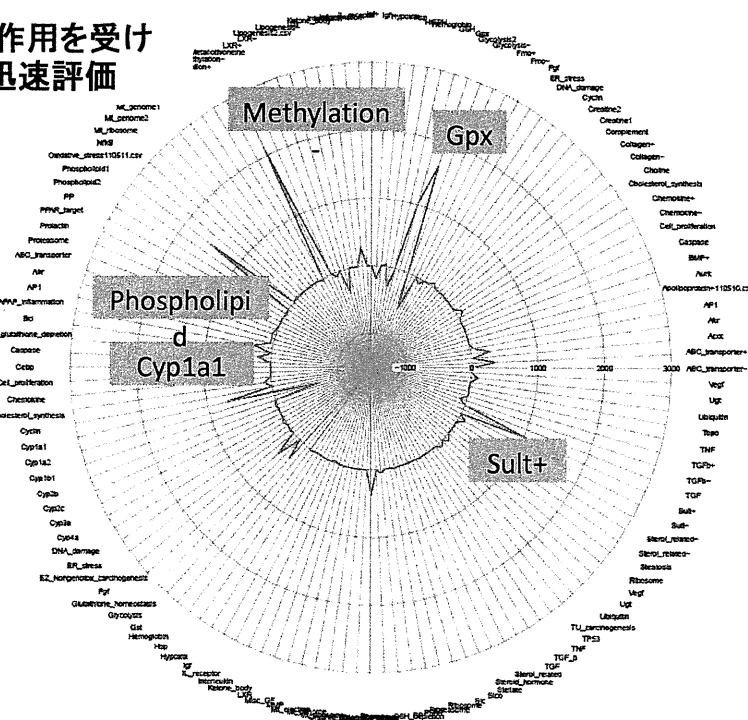
#### 特徴

- 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)

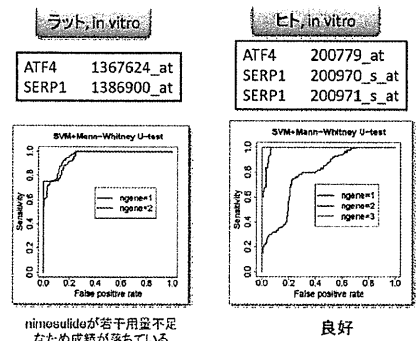
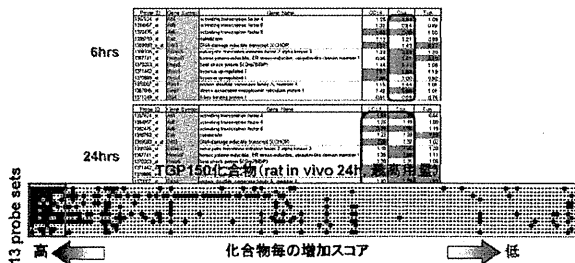
## in vitro バイオマーカーの構築

### 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

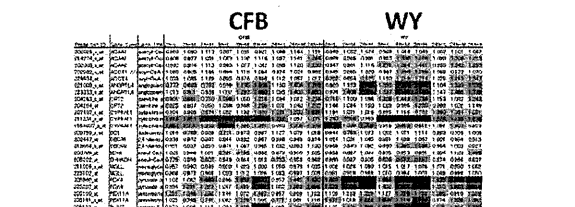
- Cribb AE et al, Drug Metabolism Reviews 37,405-442等, 複数の小胞体ストレスに関する既報論文から候補遺伝子をリスト化
- TGPデータで変動が確認された13プローブセットに絞り込み



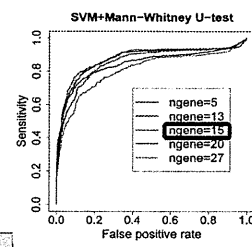
### Human(in vitro)におけるPPARα活性化マーカー

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



human オートソログの変動について検討 → 変動が小さい



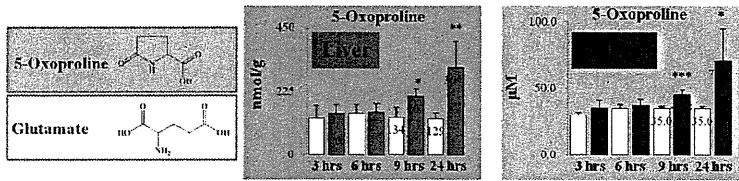
- ラットとの重複全くなし
- PPARαの下流で誘導されることが知られる遺伝子が多く含まれる

# メタボミクスバイオマーカーの探索

## 肝臓の障害を予測するメタボミクスマーカー

APAP1000 mg/kg単回投与ラットのメタボミクス解析－肝臓(226)と血漿(147)の代謝物を同定定量

### 肝臓の障害を予測するメタボミクスマーカー –5-Oxoproline



### ヒトへの外挿性

アセトアミノフェン服用時の代謝性アシドーシスと5-オキソプロリン血症/尿症の報告

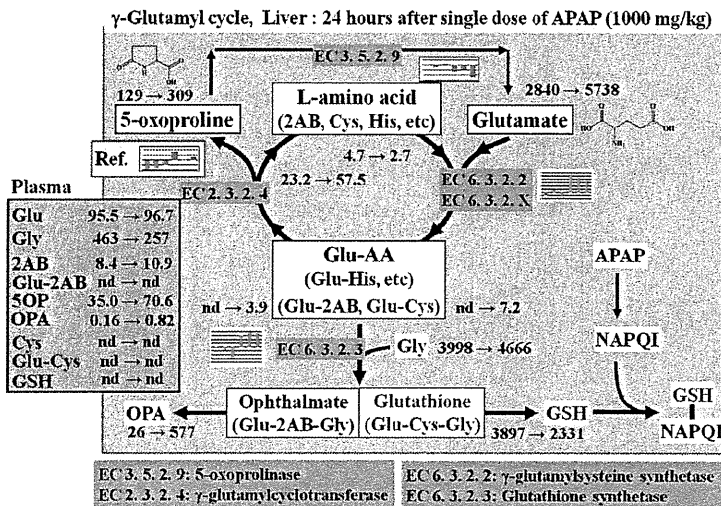
Table 1: Summary of other case reports, from references 5-12

|                  |               | pH   | AG  | APAP | S-OP, Blood | S-OP, urine      |
|------------------|---------------|------|-----|------|-------------|------------------|
| Creaf, 1999      | 52 yo female  | 7.17 | 27  | yes  | 12.6        | (0.91-1.6 g/24h) |
| Mitt, 1999       | 34 yo female  | 7.17 | 148 | yes  | 1.6         | 13,000           |
| Mitt, 1999       | 33 yo female  | 7.12 | 13  | yes  | ND          | 17,800           |
|                  | 54 yo female  | 7.23 | 26  | yes  | 6.7         | 13,800           |
|                  | 60 yo female  | 7.14 | 19  | yes  | 6.6         | 11,000           |
|                  | 56 yo female  | 7.16 | 31  | yes  | 6.6         | 10,000           |
|                  | 62 yo female  | 4.40 | 38  | yes  | 8.0         | 4,000            |
|                  | 62 yo female  | 7.49 | 29  | yes  | ND          | 5,900            |
|                  | 17 yo female  | 7.38 | 31  | yes  | ND          | 20,400           |
|                  | 1.2 yo female | 7.29 | 16  | NR   | ND          | 600              |
|                  | 73 yo female  | 7.31 | 31  | yes  | 18          | 22,000           |
|                  | 83 yo male    | 7.15 | 23  | yes  | 11.3        | 23,000           |
|                  | 57 yo male    | 7.09 | 17  | yes  | 2.3         | 5,700            |
| Creaf, 1999      | 32 yo female  | 7.17 | 29  | NR   | ND          | 6,400            |
| Despaey, 2000    | 80 yo female  | 7.27 | 15  | yes  | ND          | "divided"        |
|                  | 62 yo female  | 7.14 | 38  | yes  | 6.6         | 13,700           |
|                  | 64 yo female  | 6.80 | 13  | yes  | 5.0         | 4,000            |
|                  | 54 yo female  | 7.26 | 22  | yes  | 6.7         | 13,500           |
| Yala, 2000(9)    | 44 yo female  | NR   | 25  | yes  | ND          | 154              |
| Phosphoryl, 2005 | 41 yo male    | NR   | 29  | yes  | ND          | 5,900            |
| Taylor, 2005(10) | 48 yo male    | 7.32 | 26  | yes  | ND          | 20,700           |

Hodgman MJ et al.

J. Med. Toxicol 3: 119-124, 2007

### 代謝マップ上での生物学的妥当性の検証



# メタボミクスバイオマーカーの探索

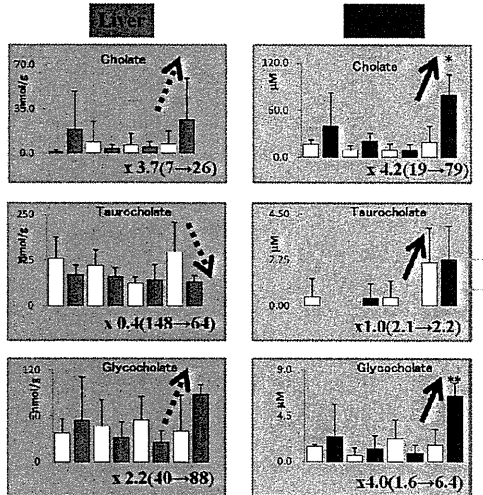
## 肝臓のグルタチオン枯渇に起因する肝障害を診断するメタボミクスマーカー

24h: Liver (Control)  
TCA+GCA+CA = 195 nmol/g  
TCA > GCA >> CA  
(148) > (40) >> (7)  
75.8% 20.5% 3.7%

24h: Liver (APAP-treated)  
TCA-GCA+CA = 178 nmol/g  
GCA > TCA > CA  
(87) > (64) > (26)  
49.2% 36.0% 14.8%

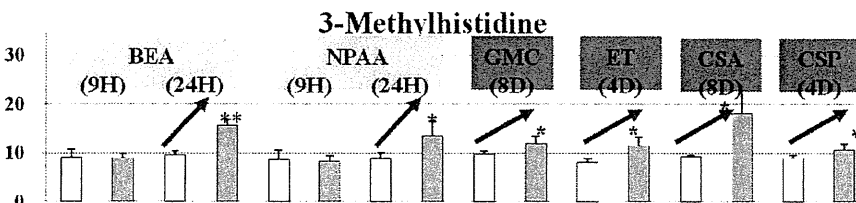
24h: Plasma (Control)  
GA-GCA+TCA = 22.6 μM  
CA >> TCA > GCA  
(18.9) >> (2.1) > (1.6)  
83.5% 9.4% 7.1%

24h: Plasma (APAP-treated)  
CA-GCA+TCA = 87.7 μM  
CA >> GCA > TCA  
(79.0) >> (6.4) > (2.2)  
90.1% 7.3% 2.5%



いずれのマーカーも代謝マップから生物学的妥当性が説明出来、ヒト外挿性を示唆する報告があるためレベル2と認定された

## 単回および反復投与試験で腎臓の障害を診断するメタボミクスマーカー



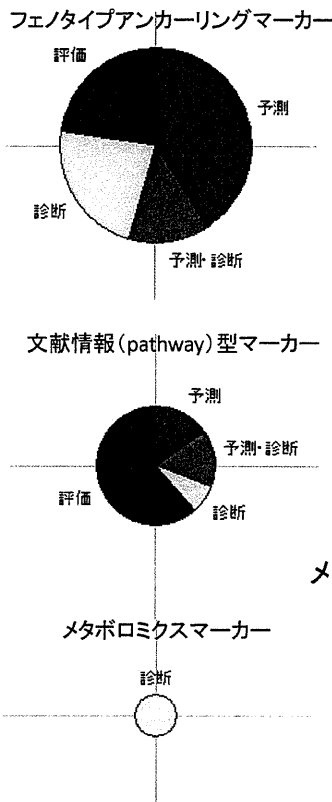
# TGPバイオマーカーで評価可能な毒性の種類

## 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    | 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 |
| 脂肪酸生合成能          | 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    | human vitro | 診断    | 判別  |
|                  | 肝    | 単回          | 評価    | スコア |
| 肝壊死(p53)         | 肝    | 単回          | 評価    | スコア |

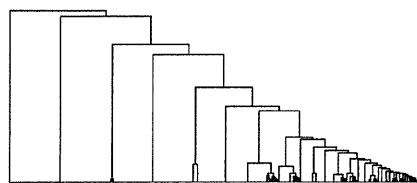


## メタボロミクスマーカー

| 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 |

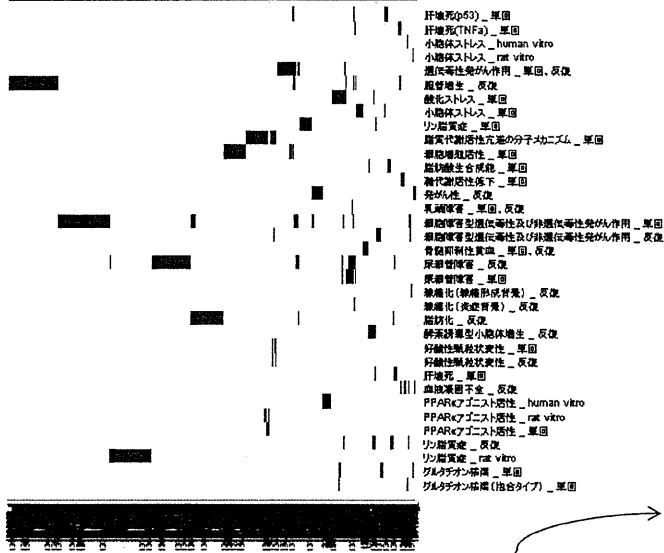
+ iCompass

# 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 !!



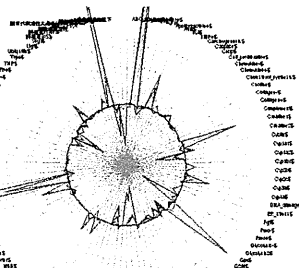
# TGPバイオマーカーの利用:

Pathwayマーカーとフェノタイプアンカリングマーカーの組合せによる毒性メカニズム解析

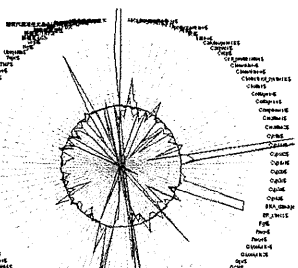
24時間時点での変動パスウェイ評価

← メカニズム評価(Pathway)マーカーによる評価

化合物A



化合物B



iCompus+pathway評価マーカーのTGP1スコア  
→化合物AとBでは変動パスウェイは異なる(作用機序が異なる)

28日間反復投与後の病理組織学的変化

← フェノタイプマーカーによる評価

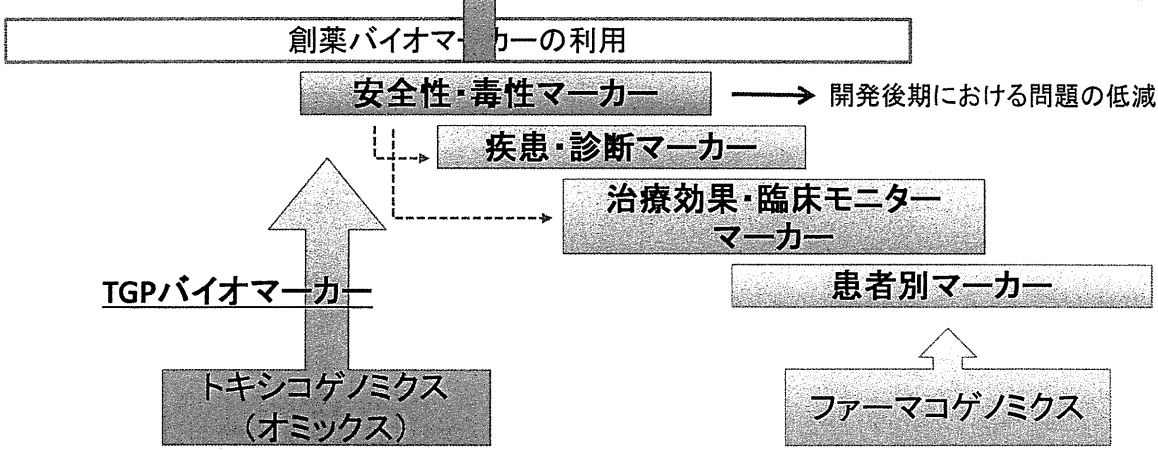
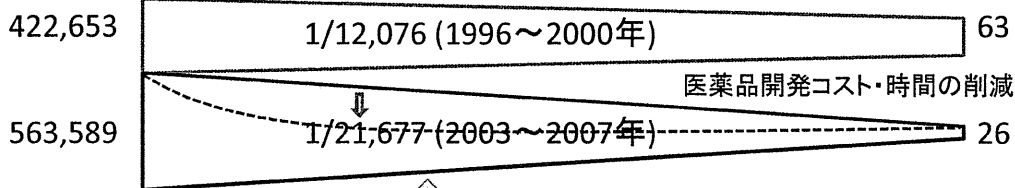
| Histopathology (±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe) |          |     |        |                           |
|--|----------|-----|--------|---------------------------|
| Liver  |          |     |        |                           |
| Hypertrophy, centrilobular   | Day 29   | (-) |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

| Histopathology (±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe) |          |     |     |     |
|--|----------|-----|-----|-----|
| Liver  |          |     |     |     |
| Hypertrophy, centrilobular   | Day 29   | (-) | (-) | (-) |
| Ground glass appearance, centrilobular                               | Day 29   | (-) | (-) | (-) |
| 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バイオマーカーの位置づけ

薬の開発成功率(出典:製薬協DATA BOOK 2002, 2009)



# TGP成果の共有・公開 → 参加企業

## TG-GATEs: データベース・解析・予測ツール

TGP2 Toxicogenomics Informatics Project in Japan

welcome to TG-GATEs  
System Ver:2.0.0 Manual

**TGP-Database**  
Data Search  
Manager  
Sample List Manager  
1. Search  
2. Registration  
**Gene List Manager**  
1. Search  
2. Registration  
3. Marker Score  
**Matrix Manager**  
1. Create Matrix  
2. Matrix List  
3. Search  
**Preset Manager**  
1. Delete

**TGP-Analyzer**  
Base View  
PCA & Clustering  
Correlation  
**TGP-Predictor**  
Create Discriminator  
Discriminator List  
Prediction  
Analysis Result

**Data Management**  
Registration  
Data Update  
Log View  
User Admin

Logout

**TG-GATEs** distributed by Toxicogenomics Project in Japan

Welcome to TG-GATEs

Database  
Analyzer

Genomics Assisted Toxicity Evaluation System  
Developed by Toxicogenomics Project in Japan

全てのバイオマーカー・予測モデルも配布

Logout

# TGP成果の共有・公開 → 一般公開

## OpenTG-GATEs: Tgxデータ・毒性試験情報の公開

NIBIO 独立行政法人 医薬基盤研究所  
National Institute of Biomedical Innovation

<http://toxico.nibio.go.jp>

2011年02月25日

OpenTG-GATEsを公開.

2011年03月22日

CELファイルの一括ダウンロード機能を追加. Open TG-GATEsの全CELファイルをライフサイエンス統合データベースセンターに寄託し, FTPサイトにて公開

2011年04月28日

Pathological Item表示画面で同じレコードが2件表示される不具合を修正.

2011年09月16日

Ciprofloxacin, Rat, in vivo, Kidney, High Dose, 29dayに関する個体データ1件を修正.

2012年1月18日

TGP2で実験された追加データを追加

2012年2月末日

ライフサイエンス統合DBセンターにてTGP2追加実験データ(CELファイル)、毒性データを公開

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

> Top

CompoundかPathologyのどちらか一つの検索条件を選択し[Search]をクリックしてください。

**Compound List**

select compound

meloxicam  
metformin  
methoxyflurane  
methimazole  
methyldopa  
methyltestosterone  
mefloquine  
monocrotaline  
moxisylyris  
naphthyl isothiocyanate

上記化合物を一つ選択してください

Search

生物種・実験条件の選択画面に進みます

**Pathology List**

select organ

Liver  Kidney

LiverかKidneyのどちらかを選択してください

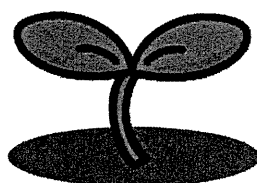
Search

病理所見の選択画面に進みます

個別のバイオマーカーは、論文等で発表

# まとめ

- プロジェクト目標の30種以上のバイオマーカー構築を達成した
- 信頼性や再現性について参加企業研究員により評価済み
- トランスクリプトームバイオマーカーは、単なる従来指標の代替としてではなく、毒性メカニズムに関する評価を加味することで、
  - リード選択の最適化
  - 開発後期における安全性問題の回避
  - 既存薬との差別化
  - 医薬品開発に関わるコストや時間の削減
- リファレンスデータ(ゲノクスデータ・毒性データ)及びバイオマーカーの一般公開(論文公開)により、
  - 更なる信頼性の検証
  - バイオマーカーのブラッシュアップ
  - ヒト外挿性の検討



29

## Thanks to all member of the TGP2 biomarker Working group

### 参加企業研究員 (敬称略・50音順)

|        |        |
|--------|--------|
| 青木 幹雄  | 豊柴 博義  |
| 赤井 翔   | 鳥塚 尚樹  |
| 芦原 基起  | 西原 久美子 |
| 阿部 香織  | 新田 浩之  |
| 上原 健城  | 半田 千彰  |
| 宇波 明   | 廣出 充洋  |
| 大村 功   | 福島 亮   |
| 奥山 学   | 堀之内 彰  |
| 甲斐 敏裕  | 本間 俊樹  |
| 川上 由里子 | 松下 智哉  |
| 神吉 将之  | 松田 喬   |
| 木野 潤一  | 南 圭一   |
| 木上 大輔  | 三宅 真波  |
| 清澤 直樹  | 武藤 裕紀  |
| 近藤 千晶  | 森下 克美  |
| 清水 俊敦  | 山田 文博  |
| 住田 佳代  | 山田 徹   |
| 棚治 隆史  | 矢本 敬   |
| 富永 幸雄  | 弓立 恭寛  |

### 同志社女子大大学

漆谷 徹郎

### TGP2事務局

山田 弘  
了戒 由宇子

### TGP2研究員

中津 則之  
箕輪 洋介  
高 衛華  
五十嵐 芳暢  
森川 裕二

### 京都大学

奥野 恭史

その他、TGP関係者・テクニカルスタッフ・IT関係者の皆様



30

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業:創薬バイオマーカー探索研究事業

「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」発表会

## バイオマーカー候補遺伝子の検証

同志社女子大学薬学部 病態生理学研究室

水川 裕美子

TGP1 (H14～H18) 大規模データベースの構築



TGP2 (H19～H23) バイオマーカー創出・・・目標

データベース (TG-GATEs)の解析



バイオマーカー候補遺伝子の抽出



検証

〔施設間・プラットフォーム間での検証  
メカニズムの解析

分担研究としてH20より担当