

厚生労働行政推進調査事業費（化学物質リスク研究事業）  
新型毒性試験法とシステムバイオロジーとの融合による有害性予測体系の構築  
（H30-化学-指定-001）

平成 31/令和元年度 分担研究報告書

Percellome 専用解析ソフトウェアの開発・改良

研究分担者 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 第一室 室長

研究要旨

本研究は、化学物質曝露が実験動物に惹起する遺伝子発現を網羅的にネットワークとして描出する技術と、バイオ・インフォマティクス技術とを実用的に統合し、従来の毒性試験に不確実係数（安全係数）を組み合わせる評価手法を補強するとともに、さらに迅速、高精度、省動物を具現化した新たな有害性評価システムとして従来法を代替することを目標とする。

特に先行研究（平成 24～29 年度）で実施した Percellome 法\*を基盤とした「新型」反復曝露実験\*\*により、化学物質の反復投与による生体影響のデータベース構築が進みつつある。単回投与のデータベースと共にこれを利用すれば、現在は長い時間と多額の費用を要している長期反復曝露の毒性評価を大幅に効率化できる可能性が高い。

この技術開発の為に本分担研究では、基盤技術開発の一環として Percellome 専用解析ソフトウェアの開発・改良を進める。

平成 30 年度は、新型反復曝露実験において有意な基線反応を示す候補遺伝子の抽出ソフトウェアの開発のため、Percellome データベースから基臓器・溶媒・サンプリング時間毎に溶媒群のトランスクリプトームデータを集めて参照データベース（BaselineDB）を構築し、基本アルゴリズムを生成した。また解析計算用ソフトウェアを作成し、自動化のための改良を行った。

令和元年度は、Percellome データベースをフル活用する網羅的比較解析ソフトウェア PercellomeExplorer を、オンラインサービス（WebAPI）として提供するためのシステム開発を進めた。オリジナル（クライアント PC 版）の PercellomeExplorer は比較解析の都度、大容量データを参照し、高い計算コストを掛けてクエリー処理を実行しているが、これをオンラインサービスとして提供するためには、クエリー毎にサーバーサイドで生じる計算負荷の大幅な軽減と、実用的な応答時間を実現するための処理時間の大幅短縮（百分の一以下）、を両立させる必要があった。このため内部データ構造を抜本的に再設計し、主要な計算を経た最終段階の中間データを保持・参照するようにした結果、実用的なオンラインサービスに足る性能の実現に成功した。

-----  
(\*) mRNA発現値を細胞 1 個当たりのコピー数として絶対定量する方法。

## A. 研究目的

本研究は、化学物質曝露が実験動物に惹起する遺伝子発現を網羅的にネットワークとして描出する技術と、バイオ・インフォマティクス技術とを実用的に統合し、従来の毒性試験に不確実係数（安全係数）を組み合わせる評価手法を補強するとともに、さらに迅速、高精度、省動物を具現化した新たな有害性評価システムとして従来法を代替することを目標とする。

本分担研究では特に、Percellome 専用解析ソフトウェアを開発して予測評価技術の基盤開発の一助とすると共に、オンライン化を進めて研究成果の速やかな社会還元を目指す。

## B. 研究方法

ソフトウェアの in house 開発に際しては、開発効率と生成する実行バイナリの実行速度を重視して、Win32/64 開発は RAD (Rapid Application Development) 対応の Delphi (Object Pascal 言語、USA, Embarcadero Technologies, Inc.) を用いた。データベースエンジンには組込型の DBISAM (USA, Elevate Software, Inc.) を、一般的なグラフ描画には TeeChart (Spain, Steema Software SL) を利用した。

サンプルデータには、Percellome データベースに収録されている実際のトランスクリプトームデータを用いた。

作成・改良した Web アプリケーションの動作確認は、Garuda platform を利用した。

## 倫理面への配慮

トランスクリプトームデータを得るための動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及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・動物実験等の適正な実施に関する規程（平成 27 年 4 月版）

## C. 研究結果

令和元年度は、Percellome データベースをフル活用する網羅的比較解析ソフトウェア PercellomeExplorer を、オンラインサービス (WebAPI) として提供するためのシステム開発を進めた。

プロトタイプとなるソフトウェア (PercellomeExplorer) は、任意の GeneList との比較解析にも対応する汎用性を重視した設計となっているため、比較解析の都度、大容量データを総当たりで参照・計算している。この処理は高い計算コストを要するため PercellomeExplorer はクライアント PC 上でのみ稼働している。

これをオンラインサービスとして提供するためには、比較解析毎にサーバーサイドで生じる計算負荷の大幅な軽減と、実用的な応答時間を実現するための処理時間の大幅短縮（百分の一以下）、を実現する必要がある。

サーバー性能の強化や通信速度の高速化、WebAPI ソフトウェアの最適化等にも限界があり、プロトタイプ (クライアント PC 版 PercellomeExplorer) の設計では実用的なオンラインサービスとしての要件を満たせなかった。

このため今年度は、PercellomeExplorer の内部データ構造を抜本的に見直した。具体的には主要な計算を経た最終段階のデータを保持・参照するようにした。また任意の GeneList との比較解析機能については主要計算の事前処理が行えないため、内部データ構造を最適化してもサーバーでの計算処理時間を短縮できないことから、サーバーでは行わずクライアント PC 側で計算できるように必要な比較データを JSON 形式で提供するように仕様を変更することとした。

最適化の結果、クエリー受付～結果表示まで 5～30 秒程度の高速化を果たし、実用的なオンラインサービスに足る性能の実現に成功した。

これらと並行して、セキュリティ強化の観点からサー

バー OS の更新 (WindowsServer2008 R2 から WindowsServer2016) を行うとともに、WebAPI ソフトウェアの不具合 (Surface グラフの描画異常等) についての修正を実施した。

#### D. 考察

Percellome データベースの全体を対象とする網羅的比較解析という、より高度な活用を促進する枠組みの構築が完了した。現状の PercellomeExplorer でも充分実用になっているとはいえ、比較解析の基となるプロジェクト毎の特徴データの抽出を数理的な自動処理 (独自開発の RSort.exe を使用) で行っているため、ある程度のノイズ混入を許容しているが、今後は分担研究「システム毒性解析の人工知能化」で進められている「深層学習を用いた大規模遺伝子発現データベースからの重要遺伝子群の判別」の AI を利用したより正確な特徴データ抽出手法という成果利用により、PercellomeExplorer においても より高精度の解析結果が得られると期待される。

#### E. 結論

本分担研究は、計画通りに進捗した。

Percellome データベースをフル活用する網羅的比較解析ソフトウェア PercellomeExplorer をオンラインサービス (WebAPI) として提供するために、内部データ構造を抜本的に再設計して高速化を果たすなどして、必要なシステム開発を進めた。これにより Percellome データベースの高度な活用及び、より一層の利用促進が見込まれる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表 (抜粋)

(1) Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, Yoko

Hirabayashi., Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing. Commun Biol 2, Article number: 57, 2019.

##### 2. 学会発表 (抜粋)

(1) Ryuichi Ono, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, and Jun Kanno Molecular Basis of the 'Baseline Response' and 'Transient Response' Observed in the Newly Designed Repeated Dose Study: Epigenetic Modifications Gordon Research Conference 2019.8.11-16, USA Massachusetts

(2) Natsume-Kitatani Y., Mizuguchi K., Aisaki K., Kitajima S., Ghosh S., Kitano H., Kanno J. Pentachlorophenol affects RIG-1 antiviral pathway that produces type 1 interferon at the transcriptional level, ISMB/ECCB 2019, 2019/07/24, Basel, Switzerland

(3) Natsume-Kitatani Y., Aisaki K., Kitajima S., Ghosh S., Kitano H., Mizuguchi K., Kanno J., Cross Talks among PPARα, SREBP, and ER Signaling Pathways in the Side Effect of Valproic Acid, IUTOX2019, 2019/07/16, Honolulu, USA

(4) 夏目やよい, 相崎健一, 北嶋聡, Gosh Samik, 北野宏明, 水口賢司, 菅野純, Garudaプラットフォームによる多角的毒性予測, 第46回日本毒性学会学術年会, 2019/06/28, 徳島

(5) Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Ryuichi Ono and Satoshi Kitajima. Epigenetic Mechanism of Modification of Gene Expression Network by a Repeated Exposure to a Chemical. Society of Toxicology and Japanese Society of Toxicology Symposium: Epigenetic Modification of Chronic Pathology and Toxicology Lecturers. The SOT 58th

Annual Meeting, (2019.3.12), Baltimore, USA, Invited  
Symposium.

**G. 知的所有権の取得状況**

**1. 特許取得**

なし

**2. 実用新案登録**

なし

**3. その他**

なし