

厚生労働行政推進調査事業費（化学物質リスク研究事業）
令和二年度 分担研究報告書

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）

Percellome データベースを利用した解析パイプライン

分担研究者 夏目 やよい
国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
バイオインフォマティクスプロジェクト
サブプロジェクトリーダー

研究要旨

毒性発現メカニズムの推定における Percellome データおよび Garuda プラットフォームの有用性を示すため、マウスにおいて肝発がん性が報告されているエストラゴルの Percellome データ解析を行った。マウスにエストラゴル（0, 10, 30, 100 mg/kg BW）を経口投与して一定時間後（2, 4, 8 あるいは 24 時間後）に摘出された肝臓における遺伝子発現プロファイルを Garuda に搭載された様々なガジェットで解析した結果、エストラゴルは特異性の高い PPAR α リガンドであることが示唆された。PPAR α のリガンドがげっ歯類において肝発がん性を呈することはこれまでも多数報告されており、マウスにおけるエストラゴルの肝発がんについても PPAR α 活性化によることが推測される。

A. 研究目的

毒性発現メカニズムの推定における Percellome データおよび Garuda プラットフォームの有用性を示すため、Percellome データを Garuda プラットフォームによって解析することによりこれらの活用例を提示することを目的としている。今年度はハーブのフェネルやタラゴン、バジルなどの香草に含まれるフェニルプロパンの一種であり、食品や医薬品に香料として使用されているエストラゴルを選択

した。エストラゴルはマウスにおいて肝発がん性が報告されている。エストラゴルを投与したマウス肝臓における Percellome データを Garuda プラットフォームによる解析に供し、それによってその毒性発現メカニズム推定を実施することとした。

B. 研究方法

マウスにエストラゴル(0, 10, 30, 100 mg/kg BW)を経口投与して一定時間後(2, 4, 8 あるいは 24 時間後)に摘出された肝臓を用いて遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにより測定した。Per cell normalization 後に遺伝子発現が変動した遺伝子を選択された。エストラゴル投与により発現変動が認められる遺伝子は、投与量・処理時間・発現量を軸にとった 3D プロットの形状より専門家によって選択され、Garuda プラットフォームへの入力データとして用いた。Garuda プラットフォーム上において、使用したガジェット(Garuda プラットフォームで連結され、相互に入出力データを共有可能となったソフトウェアの総称)は Nandi (使用可能なガジェットの提示)、Gene ID converter (遺伝子 ID 変換ツール)、Reactome (pathway enrichment 解析)、biocompendium (pathway enrichment 解析)、iPATH3(代謝パスウェイ可視化)、PercellomeDB(遺伝子発現の時間依存的・濃度依存的変動を表す 3D プロットの作成)である。更に、データ解析には TargetMine(創薬標的探索支援データウェアハウス、<https://targetmine.mizuguchilab.org/>) や Reactome web 版(パスウェイブラウザ、<https://reactome.org/>)も併用した。

C. 研究結果

Reactome ガジェットや bioCompendium ガジェットによる pathway enrichment 解析の結果、エストラゴル投与から 2 時間後のマウス肝臓において PPAR α の活性化を介した脂質代謝関連遺伝子の発現誘導が起こっている事が示唆された。その後、PPAR α の活性化を示す遺伝子発現パターンはエストラゴル投与から 4, 8 時間後の肝臓においても一番強いシグナルとして認められた。しかし、エストラゴル投与から 24 時間後においては主に PPAR α 活性化による脂質代謝関連遺伝子の発現変動が認められなくなり、目立った特徴的な発現パターンが消失した。全タイムポイントにおいてそれ以外に特徴的な遺伝子発現パターンは認められず、PPAR α に対する特異性の高さが伺える。

D. 考察

Garuda プラットフォームなど複数のツールを用いた Percellome データ解析により、ツール特異的に検出される遺伝子発現パターンを除いて信頼度の高いパターンだけに注目すると、エストラゴルによって発現変動が引き起こされる遺伝子は PPAR α によって発現制御されるもののみが顕著であった。PPAR α のリガンドがげっ歯類において肝発がん性を呈することはこれまでも多数報告されており、マウスにおけるエストラゴルの肝発がんについても PPAR α 活性化によることが推測される。一方、これ

までにバルプロ酸などの他の PPAR α リガンド（であることが示唆される低分子化合物）について Percellome データ解析を実施した結果と比較しても、エストラゴルの PPAR α リガンドとしての特異性が高いことが示された。PPAR α のリガンドがげっ歯類において肝発ガン性を呈する一方、ヒトにおいては同様の現象が認められないことはこれまでも良く知られている。更に、エストラゴルはこれまでに解析を行った他の PPAR α リガンド（バルプロ酸）と比較しても PPAR α への特異性が高く PPAR α シグナル以外のシグナル経路に対する影響が認められないことから、これらのことを踏まえるとエストラゴルの肝発ガン性はヒトにおいて健康上のリスクとなる可能性が低いことが考えられる。

E. 結論

Garuda プラットフォームを用いた Percellome データ解析により、エストラゴルの毒性発現機構の推定を行なった。「エストラゴルは遺伝子発現レベルにおいては PPAR α の活性化が主な生理活性であり、PPAR α 活性化はげっ歯類では肝発がんにつながるもののヒトにおいては健康上のリスクは高くないことが示唆される」という知見を事前知識に頼ることなくデータから抽出することに成功しており、Garuda プラットフォームや Percellome データがシステム毒性学の実践において有用な資源となることを示す成果であると言える。

F. 研究発表

1. 論文発表

Watanabe, R., Esaki, T., Ohashi, R., Kuroda, M., Kawashima, H., Komura, H., Natsume-Kitatani, Y., & Mizuguchi, K. (2021). Development of an In Silico Prediction Model for P-glycoprotein Efflux Potential in Brain Capillary Endothelial Cells toward the Prediction of Brain Penetration. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 2725-2738
[DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c02011].

Osorio, R. S. A., Nyström-Persson, J. T., Nojima, Y., Kosugi, Y., Mizuguchi, K., & Natsume-Kitatani, Y. (2020). Panomicon: A web-based environment for interactive, visual analysis of multi-omics data. *Heliyon*, 6(8), e04618.
[DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04618]

Esaki, T., Horinouchi, T., Natsume-Kitatani, Y., Nojima, Y., Sakane, I., & Mastsui, H. (2020). Estimation of relationships between chemical substructures and antibiotic resistance-related gene expression in bacteria: Adapting a canonical correlation analysis for small sample data of gathered features using consensus clustering. *Chem-Bio Informatics Journal*, 20, 58-61.
[DOI: 10.1273/cbij.20.58]

Chen, Y. A., Park, J., Natsume-Kitatani, Y., Kawashima, H., Mohsen, A., Hosomi, K., ... & Miyachi, M. (2020). MANTA, an integrative database

and analysis platform that relates microbiome and phenotypic data. *PloS one*, 15(12), e0243609.

[DOI: 10.1371/journal.pone.0243609]

夏目やよい, 水口賢司, 新薬創出を加速する AI の開発, *Precision Medicine*, Vol.3 No.5, PP.10-13 (410-413), 株式会社北隆館, 2020

2. 学会発表

「解析ツールを用いたオミックスデータからの知識抽出とその精度管理」

第 47 回日本毒性学会学術年会

○ 夏目やよい

オンライン, 2020/06/30

「新薬創出を加速する人工知能の開発 全体概要・特発性肺線維症」

○ 夏目やよい

令和元年度 PRISM 成果報告会

オンライン, 2020/7/20

「臨床情報からのデータ駆動的な患者層別化に向けて」

○ 夏目やよい

2020 年日本バイオインフォマティクス学会年会・第

9 回生命医薬情報学連合大会

オンライン, 2020/09/01

「オーファン医薬品開発における臨床情報と AI の活用について ～特発性肺線維症を例に～」

○ 夏目やよい

希少疾病用医薬品等の開発振興に係る説明会
オンライン, 2020/10/28

Estimation of relationships between chemical substructures and gene expression

antibiotic-resistance of bacteria: Adapting canonical correlation analysis for small sample data by gathered features using consensus clustering.

○ Tsuyoshi Esaki, Takaaki Horinouchi, Yayoi Natsume-Kitatani, Yosui Nojima, Iwao Sakane, Hidetoshi Matsui.

CBI 学会 2020 年大会

オンライン, 2020/10/30

「官民研究開発投資拡大プログラム PRISM 創薬 AI 社会実装への展望」

○ 夏目やよい

IQVIA ジャパンメディアセミナー

オンライン, 2020/12/8

G.知的所有権の取得状況

1. 特許取得

出願番号：特願 2021-13264

発明者：

夏目やよい、上田修功

発明の名称：

複数の項目を関係付ける

ための方法、システム、

およびプログラム

出願人：

医薬基盤・健康・栄養研究所、

理化学研究所

出願日：2021年1月29日

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし