

平成 27 年度 委託研究成果報告書【公開版】

1. 研究課題名と研究代表者名

事業名		創薬支援推進事業・創薬支援インフォマティクスシステム構築
研究課題名		肝毒性予測のためのインフォマティクスシステム構築に関する研究
機関名		国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
研究担当者	所属 役職	トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト プロジェクトリーダー
	氏名	山田 弘

2. 研究成果の内容

本研究では、in vitro データ（主に遺伝子発現データ）を基にして肝毒性フェノタイプ（肝細胞壊死、脂肪化など）や肝毒性メカニズムの予測を実現するインフォマティクスシステムの構築を目的としている。本目的を達成するため、①肝毒性データベースの構築、②肝毒性マーカーパネルの構築、③健康人由来 iPS 細胞およびアミノ酸代謝異常症患者由来 iPS 細胞を用いた in vitro 肝毒性評価システムの確立と肝毒性マーカーパネルの構築、④in vitro と in vivo データのブリッジング手法の構築、⑤②～④の成果より in vitro データから肝毒性を予測するインフォマティクスシステムの構築を目指している。平成 27 年度は、研究計画に従い以下の成果を得た。

1. 肝毒性データベースの構築

- ① 医薬品を中心とした肝毒性化合物の情報を収集するため、肝毒性に係る情報が集積された公開データベース（FDA/Liver Toxicity Knowledge Base など）に格納されているデータの内容及び構造を解析した。その結果、公開データを本研究で構築するデータベースに取り込むための ER 図の作製が完了した。加えて、収集した情報を基にヒト初代肝細胞を用いた in vitro 実験に供する化合物を選択し、遺伝子発現データを取得するための実験を開始した。
- ② 肝毒性化合物添加後の肝毒性評価、それに付随する mRNA、miRNA 及び exosome の profiling を取得するためのラット初代肝細胞を用いた in vitro 実験を実施した。加えて、iPS 細胞を用いた研究の基礎検討として、樹立済み iPS 細胞の内胚葉分化指向培養法に関する検討を行った。その結果、ラット初代肝細胞の薬剤曝露時の miRNA ならびに mRNA のプロファイルを取得することができた。細胞外に分泌される exosome の miRNA 解析については、解析手法の検討を行っている。iPSC の基礎検討では、内胚葉系マーカーが検出される条件を見出した。

2. 肝毒性マーカーパネルの構築

- ① Open TG-GATEs (<http://toxico.nibiohn.go.jp/>) に登録されているデータを活用し、in vitro 実験で取得した遺伝子発現データより肝毒性マーカーを抽出するためのインフォマティクス解析手法の検討を行った。その結果、ヒト初代肝細胞のロット間およびロット内での遺伝子発現変動の差異に寄与する遺伝子セットを特定した。

- ② 予備的に肝毒性に関する分子知識情報の網羅的収集を行うとともに、公開データから肝毒性に関する分子計測情報を収集した。その結果、現状での公開情報の調査は完了した。加えて、産総研が所有する独自分子刻印推定ソフトウェアを活用するためのデータ変換、ソフトウェアによる解析、結果整理のワークフローに関し試験的な実行を完了した。
- 3. 健常人由来 iPS 細胞およびアミノ酸代謝異常症患者由来 iPS 細胞を用いた in vitro 肝毒性システムの確立と肝毒性マーカーパネルの構築
 - ① 成熟度の高い内胚葉由来の細胞誘導方法の検討を行った。具体的には、内胚葉表面マーカーの発現をモニタリングしながら肝細胞の誘導を行い、各種分化マーカーおよび遺伝子発現を確認した。その結果、肝細胞マーカーを 96%以上発現し、インドシアニンググリーン[®]の排出機能を有し、P450 酵素を発現している肝様細胞の誘導する方法を最適化し確立した。
 - ② 次年度以降の研究遂行に必要となる評価系の検討を行った。その結果、LC/MS/MS によるアミノ酸代謝評価系の構築、パッチクランプのセットアップ、ミトコンドリア酵素活性評価系の実験条件確立を完了した。