

平成 28 年度 委託研究成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 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」
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “Development of a Drug
Discovery Informatics System”

研究課題名： (日本語) 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
(英語) Development of an Informatics System for Predicting Drug-Induced
Liver Injury (DILI)

研究担当者

所属 役職 氏名： (日本語) 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所，トキシコゲノミクス・
インフォマティクスプロジェクト，プロジェクトリーダー，山田 弘
(英語) Toxicogenomics Informatics Project, National Institutes of
Biomedical Innovation, Health and Nutrition, Project Leader,
Hiroshi Yamada

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

（1） 肝毒性データ収集とデータベース構築

肝毒性データベースに組み込む外部データベース（FDA/Liver Toxicity Knowledge Base (LTKB)、NTP/DrugMatrix、NIH/LINCS (LINCS)) のデータ収集、データベース登録データとしての整備を完了した。肝毒性データベース構築のため、20 種以上の肝毒性誘発既知化合物をヒト初代肝細胞に曝露する *in vitro* 実験及び同化合物の数種をラットに曝露する *in vivo* 実験を実施し、遺伝子発現データを取得した。

肝毒性 profiling の systematic data collection のため、薬剤曝露ヒト肝細胞の miRNA 発現解析を行い、薬剤特異的に変動する miRNA を抽出した。次に薬剤曝露時における exosome 由来 miRNA 定量 PCR 検出系を確立し、任意の miRNA マーカーパネルを *in vitro* 及び *in vivo* 肝毒性の exosome 中で検出することが可能となった。ヒト iPS 細胞由来肝細胞の毒性 profiling を行うため、ヒト iPS 細胞由来内胚葉から肝幹前駆細胞(hepatic progenitor cells : HPCs)を経由し肝細胞に分化誘導する大量培養系を開発し、高い細胞増殖性を有する HPCs を構築した。

（2） *In vitro* 肝毒性マーカーパネルの構築

肝毒性マーカーパネルの構築のための肝毒性マーカー探索では、10 種以上の肝毒性テーマについて特徴遺伝子抽出および予備的なモデル構築を完了した。並行して当該特徴遺伝子と連携させて毒性作用機序を可視化するための肝毒性作用機序マップの開発を進めており、5 種以上の予備的な肝毒性作用機序マップを構築した。肝毒性作用機序に関する知識を構造化するために、肝毒性オントロジーの構築研究を開始した。

パネル構成分子群設定のため、約 13,000 の肝毒性に関する薬剤応答遺伝子発現データに関して、薬剤、生物種、用量、時間それぞれについて、遺伝子刻印およびそのパスウェイの解析を終了した。また、それらの結果について、データベースに収納した。

（3） *In vitro* と *in vivo* データのブリッジング手法の構築

In vitro と *in vivo* データのブリッジング手法の構築では、*in vivo* で適用可能な学習セットを *in vitro* に反映させて特徴遺伝子抽出を行う手法について検討し、複数のモデルがブリッジングに適用できる可能性を見出した。

（4）肝障害をきたす酵素異常をもつ日本人および疾患由来 iPS 細胞を用いた肝毒性評価モデルの構築

肝毒性評価モデルの確立のため、肝障害をきたす酵素異常をもつ日本人由来 iPS 細胞を樹立した。ついで疾患由来 iPS 細胞から肝細胞への誘導条件を決定し、薬剤処理で iPS 細胞由来肝細胞で障害がおこることが示された。さらにそれらを用いて、薬剤による肝細胞障害マーカー候補物質を見出した。

(1) Hepatotoxic data collection and database construction

To incorporate external data in our hepatotoxicity database, we completed data collection for external databases, i.e., FDA/Liver Toxicity Knowledge Base (LTKB), NTP/DrugMatrix, NIH/LINCS (LINCS). We also completed data preparation for database registration. To develop a hepatotoxic database, we conducted in vitro experiments by exposing human primary hepatocytes to more than 20 known hepatotoxic compounds and in vivo experiments by exposing rats to some hepatotoxic compounds. Then we acquired the gene expression data.

For systematic data collection of hepatotoxic profiling, we conducted expressions of miRNA in human primary hepatocytes by miRNA chip analysis exposed to various chemicals and extracted hepatotoxicity specific miRNA molecules. We also established miRNA detection system in exosome by quantitative PCR system, which will be helpful for the confirmation and the detection of miRNA marker molecules in vitro and in vivo hepatotoxicity. For systematic data collection of iPS cell-derived hepatotoxic profiling, we developed a method for large scale producing of hepatocytes, and the differentiation method of hiPSC derived hepatocytes via hepatic progenitor cells (HPCs) possessing the high proliferation activity.

(2) Development of an in vitro hepatotoxic marker panel

To search hepatotoxic markers for an establishment of hepatotoxic marker panels, we completed feature genes extraction for more than ten hepatotoxic endpoints and built a preliminary model.

We started developing hepatotoxic course maps to visualize mechanisms of toxicity by relating feature genes and produced more than five types of preliminary hepatotoxic course maps. We also launched building an ontology to structure hepatotoxic knowledge.

We completed analyzing the gene expression signature and pathways for about 13,000 sets of gene expression data on liver toxicity, which were obtained from measurement data. Furthermore, we compiled the analyzed results in a database.

(3) Establishment of a bridging method between in vitro and in vivo data

In the building of a bridging method between in vitro and in vivo data, we examined methods of gene extraction, in which a set of training data applying for in vivo can be reflected with to in vitro data. As a result, a couple of models may have applicability to the bridging.

(4) Construction of hepatotoxicity evaluation model using iPS cells derived from Japanese with the enzyme abnormality causing liver damage and diseases.

We established Japanese iPS cells with the enzyme abnormality causing liver damage.

Next, conditions for disease-derived iPS cells into hepatocytes were determined, and it was shown that the drug treatments impaired the function of iPS cell-derived hepatocytes.

We found the hepatocellular injury markers with drug treatments.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 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，口頭，山田弘，CBI 学会 2016 年大会，2016/10/27，国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

平成28年度 委託研究成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 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」
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “Development of a Drug
Discovery Informatics System”

研究課題名： (日本語) 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
(英語) Development of a Informatics System for Predicting Drug-Induced
Liver Injury (DILI)

研究担当者

所属 役職 氏名： (日本語) 国立研究開発法人産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター
副研究センター長 堀本 勝久
(英語) Katsuhisa Horimoto, Deputy Director, Molecular Profiling Research
Center for Drug Discovery, National Institute of Advanced
Industrial Science and Technology

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究代表者：国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所・トキシコゲノミクス・インフォマテイクスプロジェクト・山田 弘 総括研究報告を参照。

約 13,000 の肝毒性に関する薬剤応答遺伝子発現データに関して、薬剤、種、dose、時間それぞれについて、遺伝子刻印およびそのパスウェイの解析を終了した。また、それらの結果について、データベースに収納した。

We completed to analyze the gene expression signature and pathways for about 13,000 sets of gene expression data on liver toxicity. Furthermore, we compiled the analyzed results in database.

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
なし。
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし。
- (4) 特許出願

平成 28年度 委託研究成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 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」
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “Development of a Drug Discovery Informatics System”

研究課題名：(日本語) 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
(英語) Development of a Informatics System for Predicting Drug-Induced Liver Injury (DILI)

研究担当者

所属役職氏名：(日本語) 国立大学法人 熊本大学 発生医学研究所 教授 江良 択実
(英語) Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University
Professor・Takumi Era

実施期間：平成28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3 月 31日

分担研究課題名：(日本語)
(英語)

研究分担者

所属役職氏名：(日本語)
(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究代表者：医薬基盤・健康・栄養研究所 山田 弘 総括研究報告を参照。

- 1、肝障害をきたす酵素異常をもつ日本人由来 iPS 細胞を樹立した。
- 2、疾患由来 iPS 細胞から肝細胞への誘導条件を決定した。
- 3、薬剤処理で iPS 細胞由来肝細胞で障害がおこることが示された。
- 4、薬剤による肝細胞障害マーカー候補物質を見出した。

1. Japanese iPS cells with the enzyme abnormality causing liver damage were established.
2. Conditions for disease-derived iPS cells into hepatocytes were determined.
3. It was shown that the drug treatments impaired the function of iPS cell-derived hepatocytes.
4. The hepatocellular injury markers with drug treatments were found.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
特になし。

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
特になし。

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特になし。

(4) 特許出願
特になし