

# 発現プロファイルによる医薬品 の肝毒性予測

産業技術総合研究所

細胞分子工学研究部門

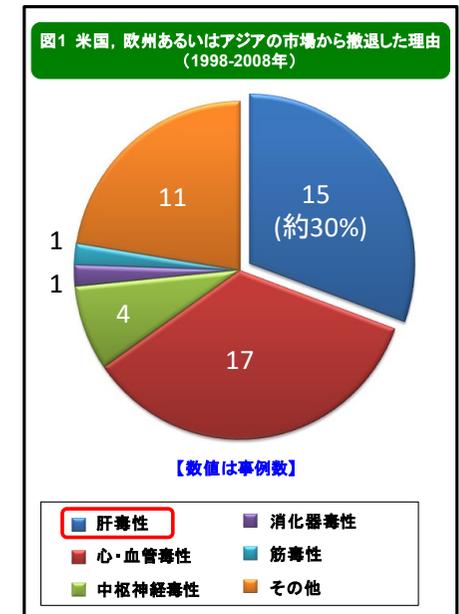
生物データサイエンス研究グループ

福井一彦 グループ長

令和2年9月10日

# 背景

- 薬剤が引き起こす毒性のうち肝臓で生じる肝毒性は、医薬品の開発中止や販売後の市場撤退の主な要因であり、欧米およびアジアの市場から撤退した医薬品のうちの約30%は肝毒性が主因で、医薬品の薬剤性肝障害リスクの回避は優先的に取り組むべき課題の1つである。
- NIBIOHN 山田グループでは、過去10年間に渡る官民共同研究を通して毒性情報および遺伝子発現情報などの大規模トキシコゲノミクスデータを集積している。
- 発現データを用いたデータ駆動型の毒性予測研究へ\*。

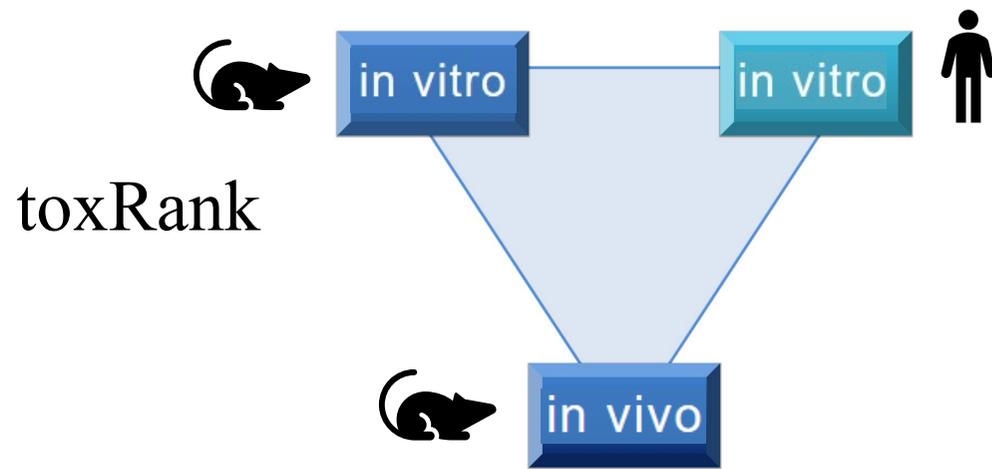
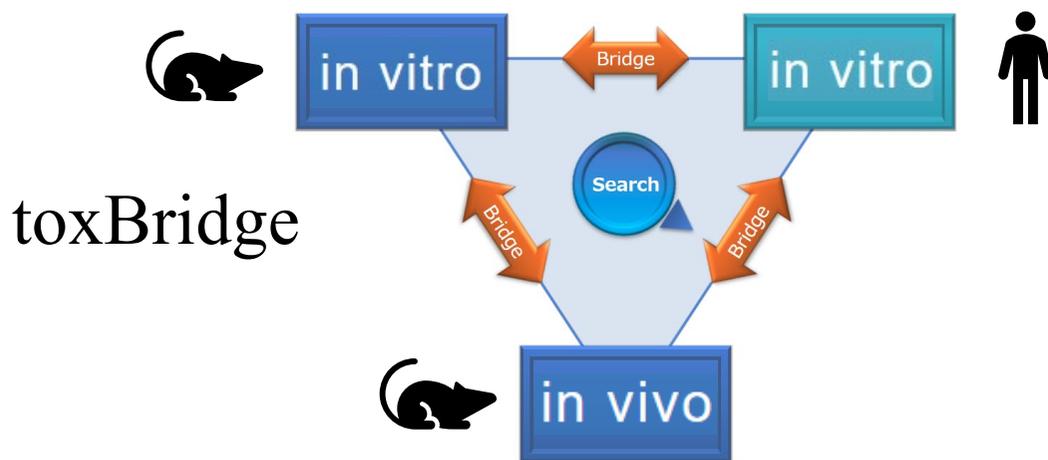


Toxicol Sci, 110, 40-46 (2009)(改変)

\* AMED「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」

# 研究概要

- 本研究では、発現プロファイルに基づくトキシコゲノミクス解析は、薬物安全性評価の改善および強化の有効な方法と考え、医薬品を中心とした約170の化合物によるラットin vivo/vitro及びヒトin vitroの遺伝子発現データを用いて、in vivo - in vitroやin vitroヒト-ラット間のブリッジングに着眼したデータベース(toxBridge)及び発現情報に基づいた肝毒性の類似化合物を検索可能とするwebサーバー(toxRank)の開発を行っている。



# 研究内容

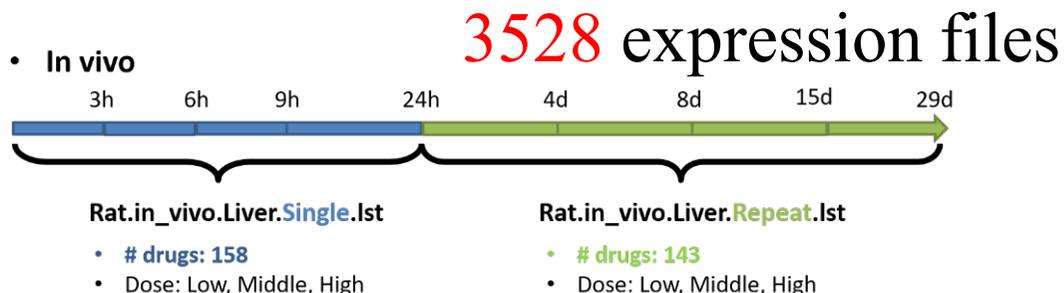
- ・ 選定した医薬品を曝露した際の遺伝子発現情報をマイクロアレイにより取得
  - *in vivo*系: ラット(肝臓および腎臓が評価対象臓器)
  - *in vitro*系: ヒト初代肝細胞およびラット初代肝細胞
- ・ トキシコゲノミクス解析



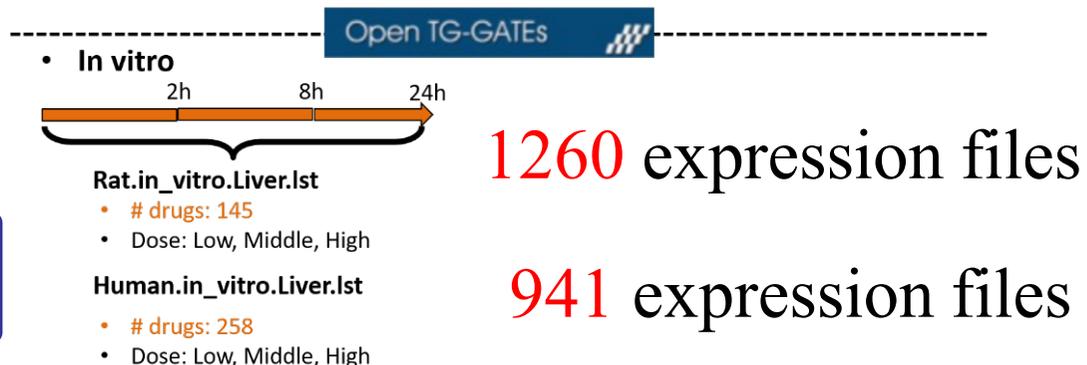
# toxBridge: データ解析

ブリッジングのための照会データとし、in vivo - in vitro や in vitro ヒト-ラットの間の各種相関指標の解析

遺伝子発現データの数理解析



網羅的相関指標の計算



$$P(X \leq l) = 1 - \sum_{i=0}^l \frac{\binom{M}{i} \binom{N-M}{k-i}}{\binom{N}{k}}$$

$$\rho = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \sum_i (y_i - \bar{y})^2}}$$

$$jaccard\ index = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|}$$

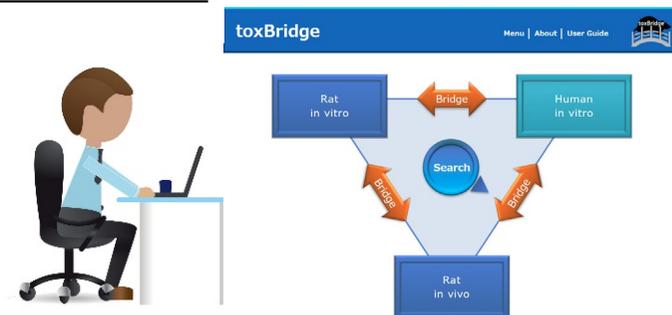
$$SJ(S_i, S_j) = \frac{J(S_i^{up}, S_j^{up}) + J(S_i^{down}, S_j^{down}) - J(S_i^{up}, S_j^{down}) - J(S_i^{down}, S_j^{up})}{2}$$

$$diss_i = \frac{(x_i - y_i)^2}{\max\{(x_i - y_i)^2\}} \in [0, 1]$$

$$\chi^2 = -2 \sum_i^k \ln(p_i)$$

$$\chi^2 \sim \chi_{df=2k}^2$$

データ格納



# toxBridge:ブリッジング

①分子の検索

Search

②化合物の検索

Bridging Gene/Pathway

Bridging Compound

Bridging Gene/Pathway

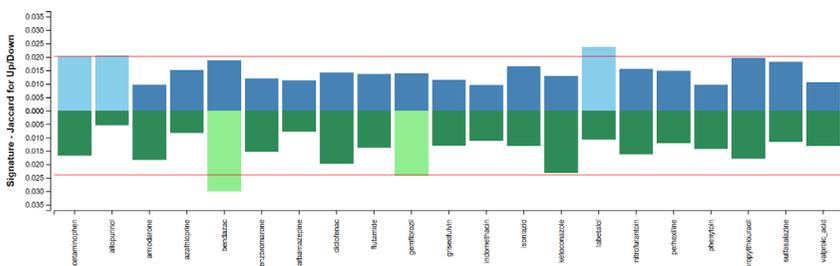
Bridging Compound

Bridge

	Rat in vitro	Human in vitro
<b>common</b>	Analysis method: <input checked="" type="radio"/> fc <input type="radio"/> nc	
<input checked="" type="radio"/> all time-dose		
<input type="radio"/> dose	<input type="radio"/> Low <input type="radio"/> Middle <input type="radio"/> High	<input type="radio"/> Low <input type="radio"/> Middle <input type="radio"/> High
<input type="radio"/> time	<input type="radio"/> 2h <input type="radio"/> 8h <input type="radio"/> 24h	<input type="radio"/> 2h <input type="radio"/> 8h <input type="radio"/> 24h
<input type="radio"/> pinpoint time-dose	<input type="radio"/> Low <input type="radio"/> Middle <input type="radio"/> High <input type="radio"/> 2h <input type="radio"/> 8h <input type="radio"/> 24h	<input type="radio"/> Low <input type="radio"/> Middle <input type="radio"/> High <input type="radio"/> 2h <input type="radio"/> 8h <input type="radio"/> 24h

相関指標による分子選択

y - axis:



Up: 3 compounds

Compound	Signature		Pathway		
	Jaccard	Signed Jaccard	Jaccard	Signed Jaccard	Spearman Correlation
acetaminophen	0.039	-0.001	0.213	-0.022	0.366
allopurinol	0.024	0.003	0.300	-0.100	0.404
labetalol	0.029	0.006	0.181	0.051	0.412

Up: 30 common genes

EctozGeneID	Symbol	Description
6833	ABCC8	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 8
55911	APOBR	apolipoprotein B receptor
1145	CHRNA	cholinergic receptor, nicotinic, epsilon (muscle)
1311	COMP	cartilage oligomeric matrix protein
1418	CRYGA	crystallin, gamma A
83657	DYNLRB2	dynein, light chain, roadblock-type 2
2151	F2RL2	coagulation factor II (thrombin) receptor-like 2
151647	FAM104A	family with sequence similarity 19 (chemokine) C-C

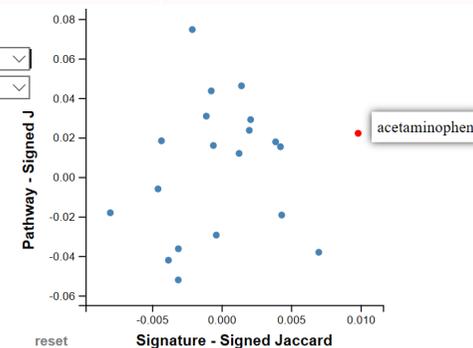
パネル構成分子群候補の取得

Bridge

	Rat in vitro	Human in vitro
<b>common</b>	Analysis method: <input checked="" type="radio"/> fc <input type="radio"/> nc	
<b>Pinpoint time-dose</b>	<input type="radio"/> Low <input type="radio"/> Middle <input type="radio"/> High <input type="radio"/> 2h <input type="radio"/> 8h <input type="radio"/> 24h	<input type="radio"/> Low <input type="radio"/> Middle <input type="radio"/> High <input type="radio"/> 2h <input type="radio"/> 8h <input type="radio"/> 24h

x - axis:

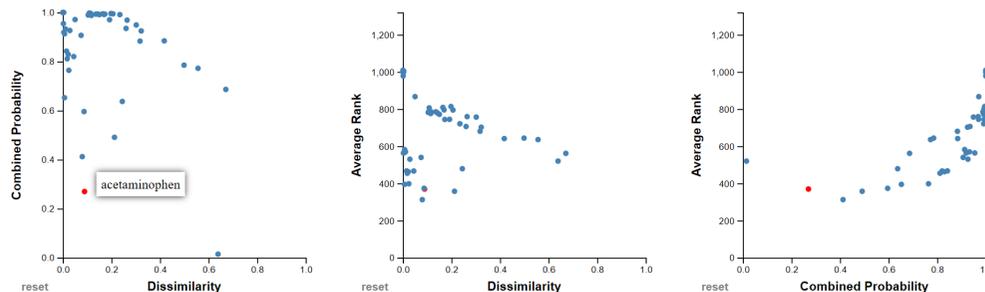
y - axis:



Pathway

source:  keyword:

パスウェイを基に





# toxBridge : まとめ

in vivo - in vitroやin vitroヒト-ラット間の各種相関指標を用い、ブリッジングのための照会データとし、相関指標による化合物や遺伝子・パスウェイ(パネル構成分子群)を取得可能。

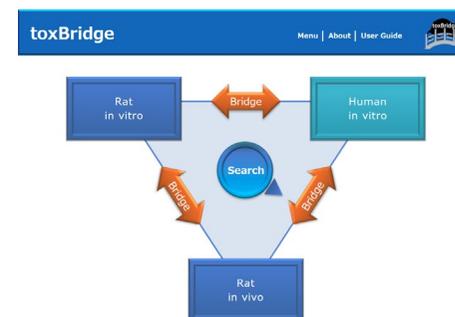
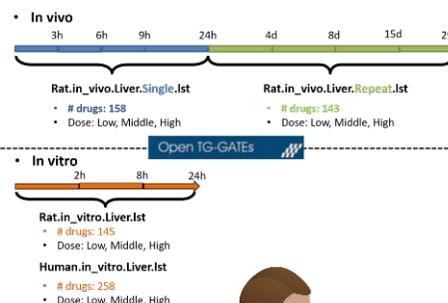
遺伝子発現データの数理解析

網羅的相関指標の計算

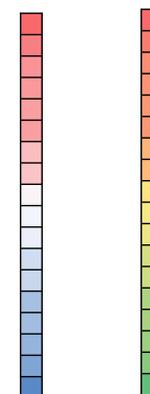
データ格納

データ検索

相関指標による化合物・分子・パスウェイの取得



Ensembl ID	Symbol	Description
123	ADAM	adomatofillin
216	ALDH1A1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1
108568	AEBP1	ankyrin repeat and SOCS box containing 11, E3 ubiquitin protein ligase
862	ATF3	activating transcription factor 3
8232	AURKB	aurora kinase B
332	BIRC5	baculoviral IAP repeat containing 5
203	BUB1B	BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase B
890	CCNA2	cyclin A2
83465	CDCA3	cell division cycle associated 3
983	CDK1	cyclin-dependent kinase 1
8156	EXO1	exonuclease 1
9288	KLAF1B1	KLAF1B1
52132	KIF1A	kinesin family member 4A
3861	KRT14	keratin 14
4224	MCM5	mitochondrial maintenance complex component 5
9833	MELK	maternal embryonic leucine zipper kinase
54823	PALMD	palmitoyltransferase
55872	PRK	PKC binding kinase
8021	PRC1	protein regulator of cyclin kinase 1

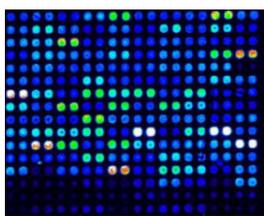


化合物選択によるパネル構成分子群候補やパスウェイの取得

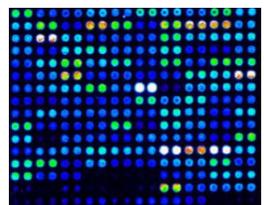
# toxRANK

## 肝毒性類似度検索エンジン

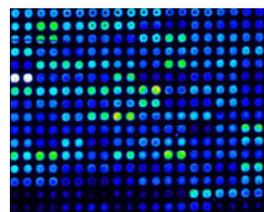
Expression Profile



Up  
Down



Up  
Down



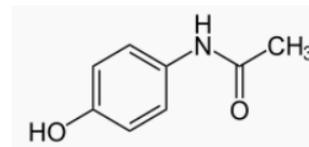
Up  
Down



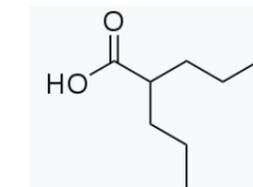
Output

Rank

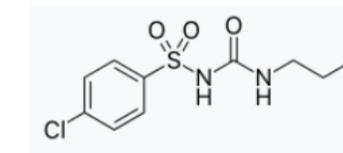
1



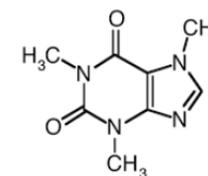
2



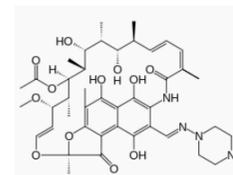
3



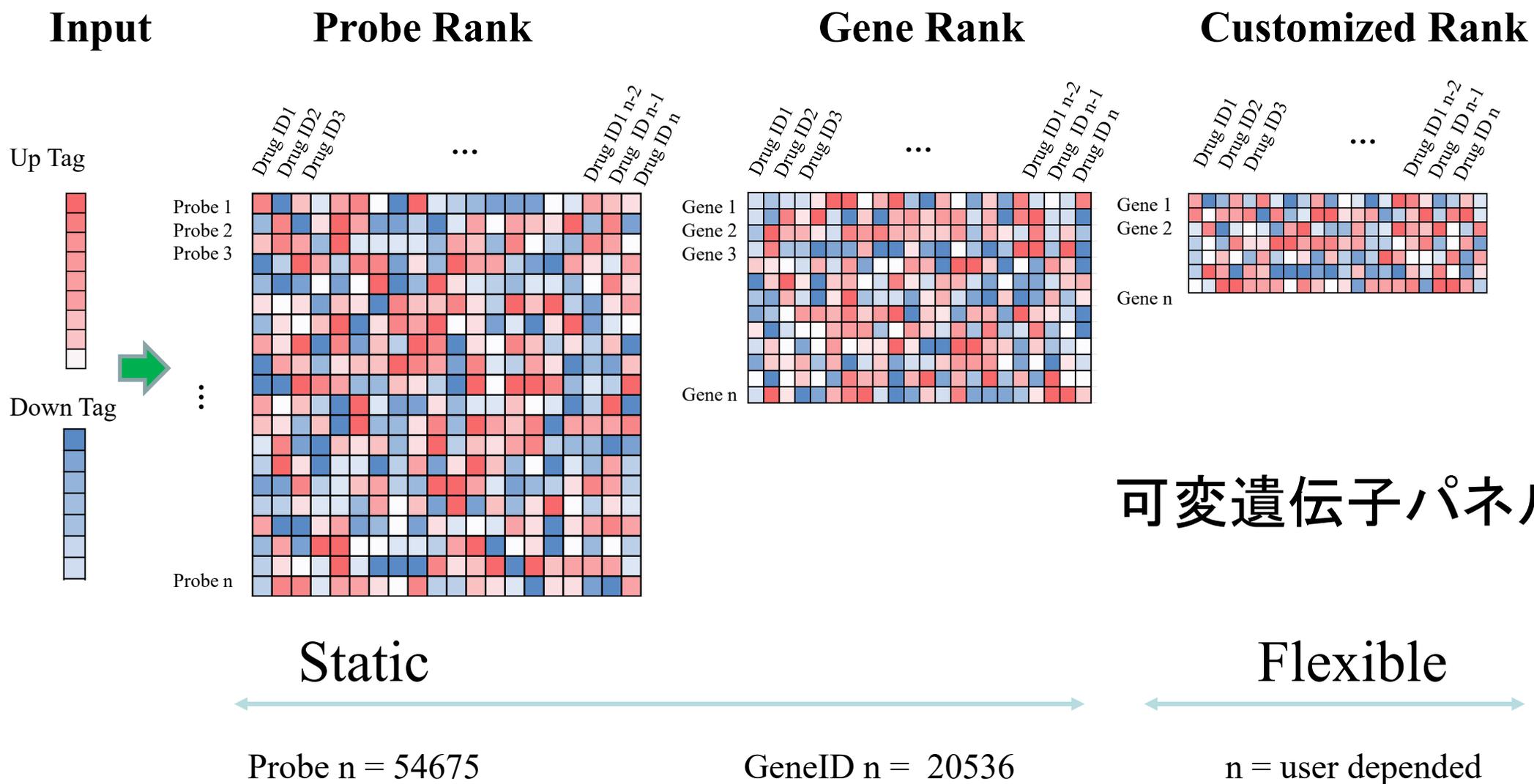
...



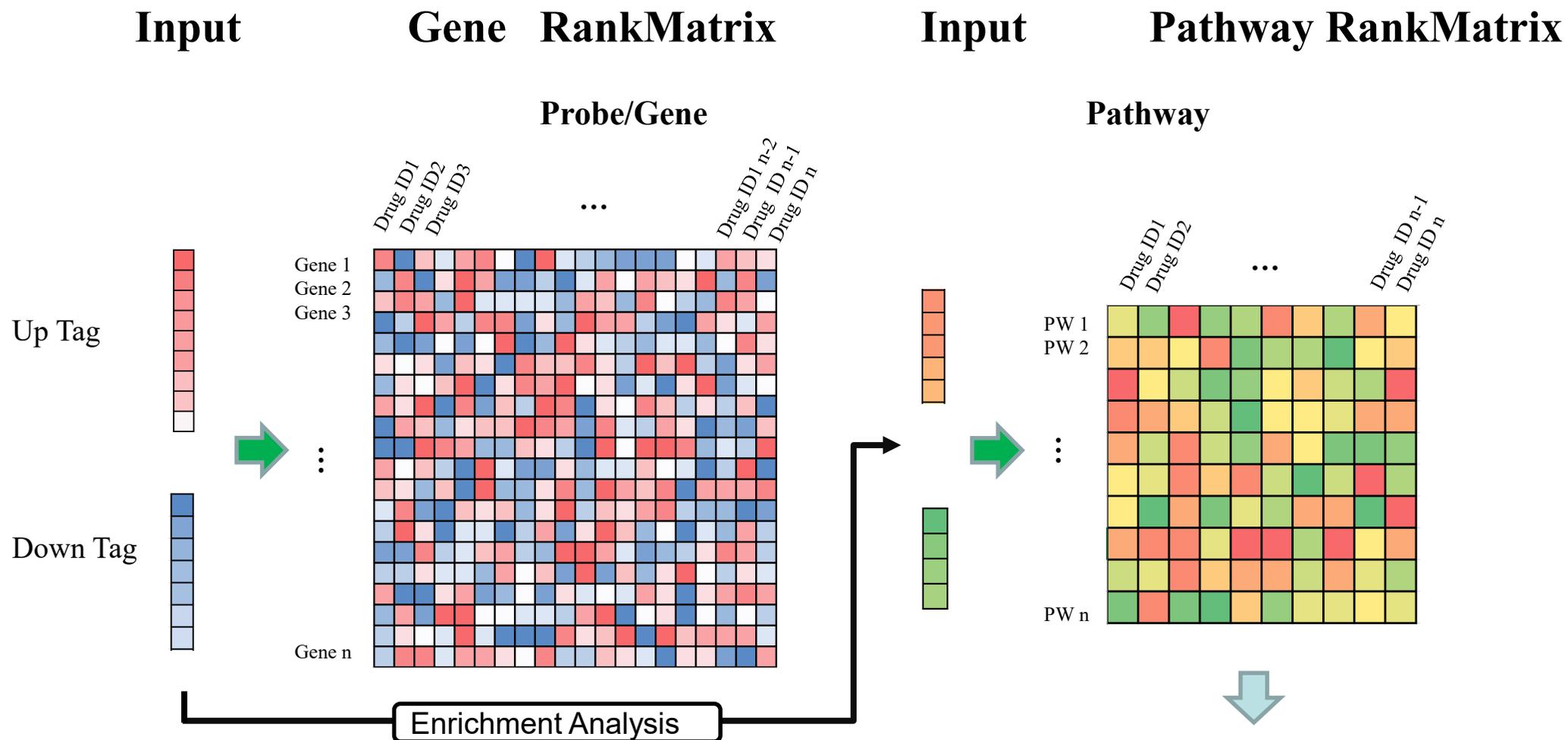
N



# toxRank: RankMatrixの作成



# toxRANK:パスウェイRankMatrixの作成



Canonical pathways: 1329

可変パスウェイパネル

# toxRank 結果:類似化合物

## toxRank Result

[>>Back to menu](#)



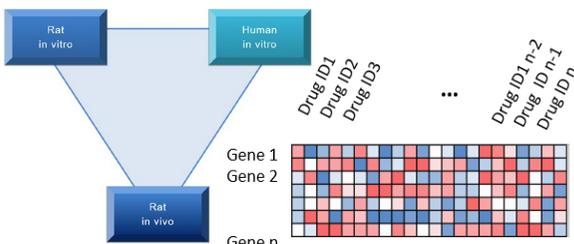
Query Analysis									
Detailed Result									
Cluster									
Network									
Rank	Compound Name	Dose	Dose Level	Time	Score	Up	Down	DILI Concern	
1	acetaminophen	1000 µM	Middle	8 hr	1.000	0.266	-0.153	Most	
2	nitrofurantoin	25 µM	Middle	8 hr	0.988	0.227	-0.187	Most	
3	acetaminophen	5000 µM	High	8 hr	0.936	0.265	-0.127	Most	
4	carbamazepine	300 µM	High	8 hr	0.920	0.253	-0.133	Most	
5	chlorpropamide	150 µM	Middle	8 hr	0.882	0.194	-0.176	Less	
6	diclofenac	400 µM	High	8 hr	0.879	0.197	-0.171	Most	
7	methyltestosterone	20 µM	High	8 hr	0.867	0.199	-0.164	Less	
8	chlorpromazine	4 µM	Middle	8 hr	0.862	0.189	-0.173	Less	
9	phenacetin	120 µM	Middle	8 hr	0.847	0.187	-0.168	---	
10	propranolol	30 µg/kg	Middle	8 hr	0.846	0.228	-0.127	Less	
11	valproic acid	1000 µM	Middle	8 hr	0.845	0.204	-0.150	Most	
12	diclofenac	16 µM	Low	8 hr	0.843	0.236	-0.117	Most	
13	phenylbutazone	400 µM	High	8 hr	0.839	0.189	-0.163	---	
14	iproniazid	1200 µM	High	8 hr	0.835	0.144	-0.206	Most	
15	tamoxifen	5 µM	Middle	8 hr	0.834	0.181	-0.168	Most	

[Download](#)

# toxRank: まとめ



UP tag



可変パネル

## 類似化合物の検索

Experiment: Human - in vitro  
Query: Rats/DH  
Up tag file: human\_invitro\_ratio\_A.probe.up.txt  
Down tag file: human\_invitro\_ratio\_A.probe.down.txt

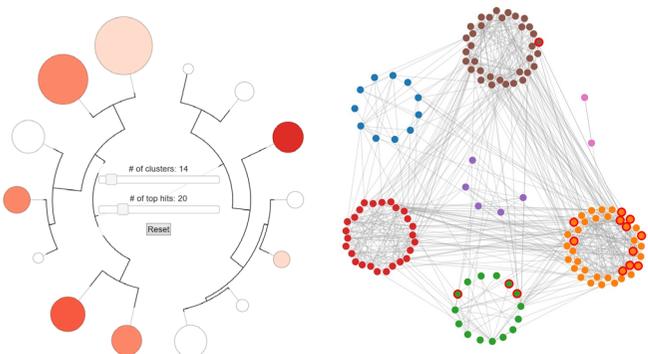
**toxRank Result**

Rank#	Compound Name	Dose #	Dose Level	Time#	Score#	Up #	Down#	DILI Concern#
1	valproic acid	200 µM	Low	2 hr	1.000	0.102	-0.147	Most
2	acetaminophen	200 µM	Low	24 hr	0.965	0.111	-0.129	Most
3	loroxicam	3 µM	Middle	24 hr	0.838	0.090	-0.118	---
4	ciprofloxacin	25 µM	High	24 hr	0.783	0.121	-0.074	Most
5	mefenamic acid	50 µM	High	8 hr	0.761	0.120	-0.070	Less
6	mefenamic acid	30 µM	Middle	8 hr	0.731	0.126	-0.056	Most
7	ibuprofen	150 µM	High	24 hr	0.716	0.081	-0.097	Less
8	diethyl maleate	1500 µM	High	8 hr	0.695	0.094	-0.079	---
9	disulfiram	12 µM	Middle	24 hr	0.693	0.089	-0.063	Most
10	LPS	60 µg/mL	Middle	24 hr	0.684	0.099	-0.071	---
11	trimethadione	2000 µM	Middle	8 hr	0.661	0.119	-0.046	Most
12	chlorpheniramine	90 µM	High	24 hr	0.640	0.096	-0.063	No
13	nitrofurantoin	5 µM	Low	2 hr	0.635	0.089	-0.069	Most
14	amiodarone	7 µM	High	2 hr	0.635	0.099	-0.059	Most
15	transforming growth factor beta 1	50 ng/mL	High	8 hr	0.632	0.063	-0.095	---
16	ticlopidine	20 µM	High	24 hr	0.626	0.064	-0.093	Most
17	ethionine	400 µM	Low	24 hr	0.627	0.084	-0.072	---
18	allyl alcohol	14 µM	Middle	8 hr	0.627	0.067	-0.089	---
19	tetracycline	5 µM	Middle	8 hr	0.624	0.041	-0.114	Less

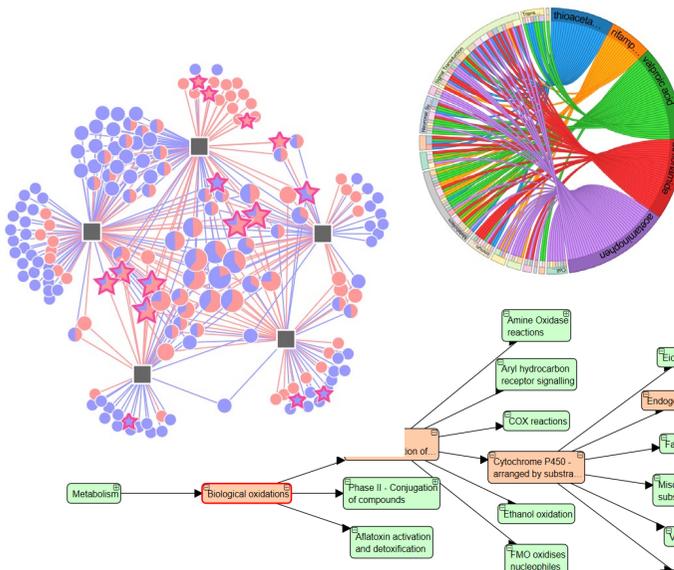
Down tag

## エンリッチメント解析

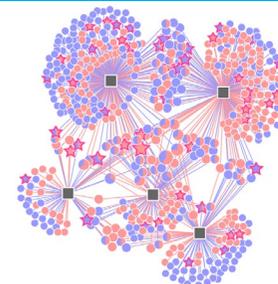
### 化合物のクラスタリング



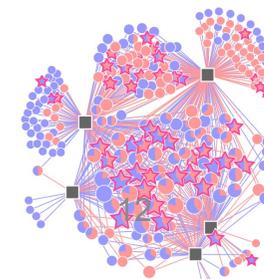
DILIによる毒性分類



化合物一パスウェイ



化合物一分子



化合物一病気

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- ・ 発現情報からの肝毒性予測技術、肝毒性メカニズムの解釈および個体差(in vivo/vitro や人/ラット)に関する考察に寄与する創薬ツールの提供を実現。
- ・ これまでは化合物の構造情報を用いた予測技術が主流であるが、評価エンドポイントとして細胞及びラット個体の毒性フェノタイプを用いることで、創薬におけるリスクマネージメントを向上。
- ・ 本技術の適用により、データサイエンスのアプローチにより実験データの高度な活用。

## 企業への期待

- 化合物を暴露した際の発現データを持つ企業については、本データをリファレンスとして利用できると考えている。
- 独自データを本システムに組み込むことで、比較が可能となる。
- 発現データやオミックスデータを持ち、データ駆動型のアプローチを駆使した肝毒性や化合物評価に興味ある企業との共同研究を希望する。
- また、ドラッグリポジショニングなどを考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

# 想定される用途：産学官連携

- 利用ライセンス

- 公開版

toxBridge: <https://toxbridge.id3inst.org/>

toxRank: <https://toxrank.id3inst.org/>

- 非公開版URL

公開版＋新規化合物を追加＋解析

- 共同研究

- 個別計測データの組み込みによるシステムの個別カスタマイズ化

## 実用化に向けた課題

- 今後、新規薬剤について実験データを取得し、システムの拡張を図る。
- インフォーマティクスのアプローチとして、他の予測技術と連携できるように技術を確立する。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 毒性学習装置、毒性学習方法、学習済みモデル、毒性予測装置およびプログラム
- 出願番号 : 特願2018-150286
- 出願人 : 産業技術総合研究所
- 発明者 : 福井一彦、堀本勝久

# 産学連携の経歴

- ・ 2015年-2019年 AMED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 「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」

# お問い合わせ先

産業技術総合研究所 生命工学領域  
イノベーションコーディネーター

**TEL** 029 - 862 - 6032

**FAX** 029 - 862 - 6048

**e-mail** [life-liaison-ml@aist.go.jp](mailto:life-liaison-ml@aist.go.jp)