

若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム(ITP)

バイオインフォマティクスとシステムズバイオロジーの国際連携教育研究プログラム 応募書類

Name: 清水 祐吾
Title: 異なる癌タイプ間の発現パターン比較による既存薬の薬効再評価
Institute: 京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター
Partner institute of your choice : Bioinformatics Program, Boston University
Duration of your choice: 2010年11月29日～2011年2月19日
Plan : <u>滞在の目的</u> 私が滞在を希望するボストン大学の DeLisi 研究室では様々な内因性・外因性シグナルに応答して変化する遺伝子やタンパク質のマイクロアレイ発現プロファイルに対するハイスループットな実験手法、計算機的・数学的手法の開発・応用研究を行っている。数多くの生物学的データ、例えば生分子の相互作用、細胞内のパスウェイ、機能モジュールなどを表現するのに有用な計算機的手法としてネットワークがあるが、DeLisi 研究室では生物学的相互作用や関係を示すようなネットワークを可視化し、解析するための VisANT と呼ばれるウェブベースソフトウェアの開発、およびそれを用いた解析も行っている。例えば、病気状態の遺伝子発現と正常状態の遺伝子発現のような 2 データセット間での表現系の差異(例えば転写活性の違い)を検出し、その差をもたらすような機能モジュールを探すための解析 Network Module Enrichment Analysis(NMEA)やネットワーク中で過剰発現されている GO タームを探すための解析 GO Term Enrichment Analysis (GOTEA)、KEGG Pathway を用いた機能アノテーションなどを行う機能が VisANT には含まれている。また、様々なスケールの生物学的ネットワークを混在させて同時に表現することができるメタグラフによる表示を行うことができるのも VisANT の特徴である。 マイクロアレイを用いた解析はバイオインフォマティクスのみならず一般の生物学においても非常に有用なものとなっており、この手法に関する知識を深めることは今後、私の研究の幅を広げる上で大いに役に立つであろうと言える。また、現在の私の行っている研究(下に後述)の発展および新たな角度からのアプローチとしてネットワークを用いた解析が有用であると思われることから、DeLisi 研究室においてそれらの知識や技術を獲得することも目的である。また交流を深めることで継続してディスカッションをしていけるような体制を築くことも目的である。  <u>研究計画</u> 新規薬剤を開発するには多くのプロセス(候補化合物の探索から臨床試験まで)を経る必要があり、一つの薬剤を開発するのに平均 10 年、10 億ドルもの膨大な年月、コストがかかると言われている。そこで、この年月、コストを軽減させるために考えられた一つの方法が既存薬の薬効再評価(Drug repositioning)である。これはある特定の病気、症状などに使われる薬がそれ以外のものにも有効な効果があるのではないかと可能性を探索するものである。例えば、アマンタジンという薬は元々インフルエンザ治療薬として開発されたがパーキンソン病にも効果があることがわかり適用が拡大された。このように既存の薬の効能を再評価することで、開発コストを大きく引き下げることが可能になると言える。DeLisi 研究室に所属する重水博士らは特に抗癌剤の新規候補をこの薬効再評価によって探索するという手法を開発している。この手法はマイクロアレイの発現データを用いて、癌特異的に

up-regulate(または down-regulate)されている遺伝子に対してその発現を抑える(または促進する)ような薬剤を探索するものである。その概要は下記のとおりである。

1) 癌細胞と正常細胞の遺伝子発現データを t-test により比較することにより癌特異的に up-regulate または down-regulate されている遺伝子を検出し、その t-score によって up-regulate および down-regulate の度合いをランキング化する

2) 癌細胞とその癌細胞にある化合物(既存薬を含む)を投与した時の遺伝子発現データを 1)と同様に比較し、ランキング化する

3) 1)のランキングの上位遺伝子 k 個と 2)のランキングの下位遺伝子 k 個を比較し、重複個数をカウントする。また、同様に 1)の下位遺伝子 k 個と 2)の上位遺伝子 k 個を比較する

4) 3)の k の数値を変化させ、それぞれの重複個数が統計的に有意であるかどうかを Fisher's exact test を用い検定する

5) 4)で有意であると判断された化合物を新規薬剤の候補としてその詳細を調査する

ここでマイクロアレイデータには CMAP(Connectivity map)と呼ばれるデータベースが用いられ、ここには Breast cancer, Leukemia, Prostate cancer の 3 種類の癌タイプの細胞に対して FDA 承認薬を含む生化学活性のある化合物を投与した時のアレイデータが含まれている。以前の研究ではこの 3 種の癌タイプを用いた新規薬剤候補の探索が行われている。現在、Gene Expression Omnibus(GEO)や The Cancer Genome Atlas(TCGA)などのデータベースには上記 3 種以外の様々な癌タイプのアレイデータが存在しており、今回、私はこれらのデータベースを用い、上記 3 種以外の癌タイプへの上記解析の拡張を行う予定である。

私は現在、天然化合物の一種であるポリケチドと呼ばれる化合物群の生合成に用いられるポリケチド合成酵素(PKS)について解析を行っている。PKS の遺伝子配列には一つまたは複数のドメインが存在し、それらがモジュールを形成している。そのモジュールのドメイン構成の違いに対応して触媒反応が変化することが知られている。この特性を用いた計算機的な解析によって、PKS の配列情報から生成されるポリケチドの化学的な構造を予測するという試みが行われており、一部の生物種における、一部のタイプの PKS においてはある程度の成功が収められている。そこで私はこの予測をあらゆる生物種、タイプにおいて行うための準備として、KEGG GENES データベースからゲノムの決定されたあらゆる生物種における PKS 遺伝子を検索し、配列の 1 次情報やドメイン情報を用いて PKS 遺伝子およびタンパク質の分類を行い、既存の分類との比較・特徴付けを行ってきた。PKS によるポリケチド合成はモジュールと化学反応の対応、モジュールの使用回数・順番によって基本骨格が決定され、さらにこの基本骨格に修飾を行う様々な酵素が働くことによって様々な派生型が生成される。これらの対応関係・相互作用はネットワークとしてとらえることができ、ネットワーク解析の技術を用いることで新たな情報を得ることができると期待され、その化合物生成物予測への応用を考えていきたい。

滞在中は DeLisi 研究室で行われている定期ミーティングに積極的に参加し、ディスカッション力・コミュニケーション力を向上させ、お互いの研究内容の理解を深められるようにしていきたい。

以上の計画を踏まえた上で、研究の進展および国際的な研究能力の向上をできるよう努力していきたい。