

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成 23 年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	医薬品開発支援のための染色体工学技術によるヒト型薬物代謝モデル動物の作製
研究機関・ 部局・職名	鳥取大学・染色体工学研究センター・助教
氏名	香月 康宏

### 1. 当該年度の研究目的

薬物代謝関連遺伝子をヒトと実験動物で置き換えたヒト化動物は、ヒト特異的な薬物代謝や安全性を予測する上で大きな役割を果たすと考えられる。薬物代謝酵素遺伝子は多くが Mb 単位の巨大な遺伝子クラスターとして存在するため、従来技術では一部の遺伝子しか導入できないという問題点がある。本年度は上述の課題を克服するため、ヒト特異的な薬物代謝に関わる、第一相酵素 CYP 遺伝子群、第二相酵素 UGT 遺伝子群、トランスポーター、CYP 誘導を制御する核内受容体、をそれぞれ人工染色体ベクターに搭載することを実施する。また、来年度から実施予定の、課題①遺伝子発現と代謝活性評価、課題②バイオアベイラビリティ評価、課題③薬物相互作用の評価、課題④薬物の初回通過効果の解明に関する情報の予備調査ならびに正常マウス・ラットを用いた予備試験を実施し、来年度以降の本試験をスムーズに実施させる。

### 2. 研究の実施状況

ヒト特異的な薬物代謝に関わる遺伝子のうち、CYP3A, CYP2C, UGT2, MDR1, PXR をそれぞれ新規人工染色体ベクターに搭載した。CYP3A, CYP2C, UGT2, MDR1 遺伝子に関しては、転座型クローニング法を用いて、各遺伝子クラスターを人工染色体ベクターに搭載した。PXR 遺伝子に関しては、挿入型クローニング法を用いて、人工染色体ベクターに搭載した。具体的には、昨年度までにスクリーニングした、CYP2C 遺伝子が存在するヒト 10 番染色体を保持する A9 細胞、UGT2 遺伝子が存在するヒト 4 番染色体を保持する A9 細胞、MDR1 遺伝子/CYP3A 遺伝子が存在するヒト 7 番染色体を保持する A9 細胞から各ヒト染色体を DT40 細胞に導入し、PCR 法により DNA をスクリーニングし、FISH 解析により目的のヒト染色体が導入された DT40 細胞を選別した。次に各染色体用の部位特異的ターゲティングベクターを構築し、上記で作製した各 DT40 細胞に導入することで、部位特異的に loxP 配列を挿入し、さらに部位特異的に染色体を切断することに成功した。さらに上記改変染色体を loxP 配列を持つ人工染色体が導入された CHO へ導入後、loxP 配列特異的組換え酵素 Cre を発現させることで、各目的遺伝子領域を人工染色体上へクローニングすることができた。また、ヒト化モデルマウス・ラットの invitro ならびに invivo 評価のための情報収集を行い、正常マウス・ラットを用いての予備試験を実施し、薬物相互作用評価についてマウスへの薬物投与量を決定した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件                  1. <u>Kazuki Y.</u>, Oshimura M. (2011 Sep) Human Artificial Chromosomes for Gene Delivery and the Development of Animal Models. <i>Mol Ther.</i> Volume 19, number 9 :1591-601. doi: 10.1038/mt.2011.136.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件                  1. 小林カオル、<u>香月康宏</u>：人工染色体ベクターを用いて作製した薬物動物関連遺伝子ヒト化マウス、DMPK ニュースレター、Vol.26, No.5, p11-13 (2011)                  2. <u>香月康宏</u>、押村光雄：染色体工学技術による医薬品開発のためのヒト化モデル動物の開発、谷本学校 毒性質問箱、サイエンティスト社、第 13 号、p124-126 (2011)</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件                  1. <u>Kazuki Y.</u> and Oshimura M., (平成 23 年 12 月 13-16 日、横浜) Novel human artificial chromosome vector for gene delivery、第 34 回分生生物学会年会 (ワークショップ)                  2. <u>Kazuki Y.</u>, Takiguchi M., Hiramatsu K., Ueno E., Akakura Y., Kajitani N, Kazuki K., Yoshino T., Takehara S., Yidan L., Hashimoto M., Kobayashi K., Chiba K. and Oshimura M. (平成 23 年 11 月 16-18 日、広島) Humanized model mice containing P450-related genes using a novel mouse artificial chromosome、第 26 回日本薬物動態学会年会                  3. <u>香月康宏</u>、滝口正人、平松敬、上野悦也、赤倉裕太郎、梶谷尚世、吉野とう子、香月加奈子、嵩原昇子、石原千恵、押村光雄 (平成 23 年 7 月 8-9 日、越後湯沢) 様々な動物種への外来染色体導入技術、第 25 回モロシヌス研究会                  4. <u>香月康宏</u>、滝口正人、平松敬、上野悦也、赤倉裕太郎、梶谷尚世、吉野とう子、香月加奈子、嵩原昇子、石原千恵、押村光雄 (平成 23 年 5 月 25-27 日、東京) ヒト化モデル動物作製のための新規マウス人工染色体ベクター、第 58 回日本実験動物学会総会</p> <p>一般向け 計 5 件                  1. <u>香月康宏</u>、ヒト化モデルマウス (CYP3A-HAC) の代謝・安全性への利用 (2011 年 6 月米子) ディ・スリー研究所第 3 回創薬塾セミナー、参加人数 50 名                  2. <u>香月康宏</u>、人工染色体技術で創薬を加速できるか? (2011 年 5 月東京) バイオファイナンスギルド第 9 期第 10 回セミナー、参加人数 30 名                  3. <u>香月康宏</u>、染色体工学技術を用いた医薬品開発と遺伝子再生医療への応用 (2011 年 7 月東京) 2011 Promega New Technology Seminar in Tokyo、参加人数 100 名                  4. <u>香月康宏</u>、染色体工学技術を用いたヒト化モデル動物の作製とその応用 (2011 年 12 月金沢) 金沢大学・生命工学トレーニングコース・セミナー、参加人数 50 名                  5. <u>香月康宏</u>、染色体工学技術を用いた医薬品開発支援ツールの開発 (2012 年 2 月大阪) とっとり' 発バイオセミナー～とっとり発のバイオ技術で新しいビジネス展開を～、参加人数 30 名</p>

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件  (出願中) 計0件
Webページ (URL)	鳥取大学広報、お知らせ・トピックス、「大学院医学系研究科 香月助教が、第58回日本実験動物学会総会 若手優秀発表賞を受賞」、 <a href="http://www.tottori-u.ac.jp/dd.aspx?itemid=7011">http://www.tottori-u.ac.jp/dd.aspx?itemid=7011</a>
国民との科学・技術対話 の実施状況	「国民との科学・技術対話」の推進のための活動として、JST および鳥取県が支援する「地域産官学連携拠点」事業と連携して、昨年整備された上記支援のための産官学連携研究施設「とっとりバイオフロンティア」において、バイオ関連専門技術者の人材育成ならびに既存の産学官連携組織を活用した産業振興を促進した。また、インターネットを通じた研究成果の情報発信を行い、一般市民向けセミナーの開催を実施することで国民に理解しやすい形で本事業を説明した。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	117,000,000	27,000,000	0	90,000,000	0
間接経費	35,100,000	8,100,000	0	27,000,000	0
合計	152,100,000	35,100,000	0	117,000,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	26,000,000	0	0	26,000,000	23,242,782	2,757,218	0
間接経費	7,800,000	0	0	7,800,000	5,075,035	2,724,965	0
合計	33,800,000	0	0	33,800,000	28,317,817	5,482,183	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	12,924,934	実験試薬、実験器具
旅費	598,160	学会参加のため
謝金・人件費等	6,439,938	研究支援者に係る賃金
その他	3,279,750	動物飼育費、検査費用
直接経費計	23,242,782	
間接経費計	5,075,035	
合計	28,317,817	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
回転式胎仔培養装置	CatNo10-033102 台分	1	4,761,750	4,761,750	2011/9/30	染色体工学研 究センター
薬用冷蔵ショー ケース 一式	MPR-514R(51G)	1	572,775	572,775	2011/4/21	染色体工学研 究センター