

## 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 24 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。昨年度までに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 を転写制御する転写因子、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した。本年度は、各人工染色体ベクターをマウス ES 細胞に導入し、キメラマウスを作製することで、それらの性能を *in vivo* で確認することを目的とする。また、昨年度に引き続き、これまでに開発した CYP3A-HAC マウスや正常マウス・ラットを用いて、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を検討することで、作製したモデル動物がヒトの代謝を再現するかを確認する。

### 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、新規人工染色体ベクターに搭載した CYP3A, CYP2C, UGT2, MDR1 の各人工染色体をそれぞれマウス ES 細胞に微小核細胞融合法を用いて導入した。それぞれについて、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領域を保持する新規人工染色体ベクターが導入されたマウス ES 細胞を選別した。それぞれの人工染色体保持 ES 細胞から 3-5 株ずつ選別し、キメラマウスを作製した。いずれの場合も高キメラマウスが出生することを確認した。また、CYP3A および UGT2 クラスターを保持する人工染色体については子孫に伝達することが確認された。上記 F1 マウスから以下の実験に用いるための F2 コロニーを作製したところ、メンデル遺伝の法則に従い、効率的に F2 マウスを繁殖できることを確認した。さらにそれらの種々の組織で各クラスターの遺伝子の発現を確認したところ、ヒトと同様のパターンで時期特異的、組織特異的に各遺伝子が発現していることが確かめられた。また、ヒト化モデルマウス・ラットの *in vitro* ならびに *in vivo* 評価のための情報収集を行い、CYP3A-HAC マウス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 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Takiguchi M, <b>Kazuki Y</b>, Hiramatsu K, Abe S, Iida Y, Takehara S, Nishida T, Ohbayashi T, Wakayama T, Oshimura M. (2012 Nov) A Novel and Stable Mouse Artificial Chromosome Vector. <i>ACS Synth. Biol.</i> doi.org/10.1021/sb3000723</li> <li>2. <b>Kazuki Y</b>, Kobayashi K, Aueviriyavit S, Oshima T, Kuroiwa Y, Tsukazaki Y, Senda N, Kawakami H, Ohtsuki S, Abe S, Takiguchi M, Hoshiya H, Kajitani N, Takehara S, Kubo K, Terasaki T, Chiba K, Tomizuka K, Oshimura M. (2013 Feb) Trans-chromosomic mice containing a human CYP3A cluster for prediction of xenobiotic metabolism in humans. <i>Hum Mol Genet.</i> 22(3):578–92. doi: 10.1093/hmg/dds468.</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>香月康宏</b>、押村光雄: 遺伝子導入のための新規ヒト人工染色体ベクター、細胞工学、Vol. 31, No. 11, p 1260–1267 (2012)</li> </ol> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 12 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Kazuki Y</b>, Kobayashi K, Inaba A, Abe S, Takehara S, Igarashi K, Kitajima S, Kanno J, Chiba K and Oshimura M (平成 24 年 11 月 20–22 日、東京) GENERATION OF A NOVEL HUMANIZED CYP3A AND SXR MOUSE MODEL FOR DRUG DEVELOPMENT、第 27 回日本薬物動態学会年会</li> <li>2. Abe S, Akita M, <b>Kazuki Y</b>, Kobayashi K, Oshima T, Tsukazaki Y, Senda N, Kamataki T, Kubo K, Chiba K, and Oshimura M (平成 24 年 11 月 20–22 日、東京) Thalidomide-induced limb abnormalities in humanized CYP3A (CYP3A-HAC) mice、第 27 回日本薬物動態学会年会</li> <li>3. Endo M, Kobayashi K, Yamasaki Y, Inaba A, Abe C, <b>Kazuki Y</b>, Takehara S, Oshimura M and Chiba K (平成 24 年 11 月 20–22 日、東京) CELLULAR MECHANISMS OF HUMAN CYP3A4 UP-REGULATION BY ESTROGEN IN THE LIVER、第 27 回日本薬物動態学会年会</li> <li>4. Hashimoto M, Kobayashi K, Watanabe M, <b>Kazuki Y</b>, Takehara S, Oshimura M and Chiba K (平成 24 年 11 月 20–22 日、東京) Effects of dietary cholesterol on expression and activity of human CYP3A4、第 27 回日本薬物動態学会年会</li> <li>5. Hashimoto M, Osamura M, Kobayashi K, Kuze J, <b>Kazuki Y</b>, Oshimura M, Chiba K (平成 24 年 11 月 20–22 日、東京) Effects of dietary cholesterol on expression and activity of human CYP3A4 in CYP3As-humanized (CYP3A-HAC) mice、第 27 回日本薬物動態学会年会</li> <li>6. Takenaka T, Harada N, Kuze J, Oda N, Chiba M, Abe S, <b>Kazuki K</b>, Kazuki Y, Oshimura M (平成 24 年 11 月 20–22 日、東京) DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF CACO-2 CELLS CO-EXPRESSING CYP3A4 AND P450 OXIDOREDUCTASE USING HUMAN ARTIFICIAL CHROMOSOME VECTOR、第 27 回日本薬物動態学会年会</li> </ol>

	<p>7. <b>Kazuki Y.</b>, Abe S, Kajitani N, Kazuki K, Takehara S, Ueno E, Li Yidan, Deguchi T, Iwasaki M, Kurihara A and Oshimura M (平成 24 年 11 月 20-22 日、東京) A NOVEL HUMANIZED UGT2 MOUSE MODEL: (1) PRODUCTION OF MICE CONTAINING THE HUMAN UGT2 CLUSTER FOR DRUG SCREENING、第 27 回日本薬物動態学会年会</p> <p>8. Deguchi T, Kurihara A, Iwasaki M, Kanda A, Murata S, Yamamura N, Nakamura K, <b>Kazuki Y.</b>, Takehara S, Oshimura M and Izumi T(平成 24 年 11 月 20-22 日、東京)A NOVEL HUMANIZED UGT2 MOUSE MODEL: (2) FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF HUMANIZED UGT2 MICE、第 27 回日本薬物動態学会年会</p> <p>9. <b>香月康宏</b>、小林カオル、大島毅、墳崎靖子、千田直人、秋田正治、鎌滝哲也、阿部智志、久保欣也、千葉寛、押村光雄 (平成 24 年 7 月 17-19 日、仙台) サリドマイドにより催奇形性を示すヒト型 CYP3A クラスター保持マウス、第 39 回日本毒性学会総会</p> <p>10. Tsukazaki Y., Ueno E., Senda N., Kubo K., <b>Kazuki Y.</b>, and Oshimura M. 4-Hydroxy <i>trans</i>-Retinoic Acid: one of major and unique metabolites from t-RA in the liver of fetal CYP3A transchromosomal mouse (2012 July.17-21, Netherlands)19<sup>th</sup> MDO and 12<sup>th</sup> European ISSX</p> <p>11. Tateno C., Nakada N., Kakuni M., Masato O., Hamamura S., Ohshita H., <b>Kazuki Y.</b>, Oshimura M., Sato K., Kato K., Kawamura A., Kamimura H. and Usui T., Novel Cyp 3a Knockout Chimeric Mouse with Humanized Liver and Metabolic Profiling of Nefazodene for Accurate Pre-clinical Human Prediction (2012 July.17-21, Netherlands)19<sup>th</sup> MDO and 12<sup>th</sup> European ISSX</p> <p>12. Tsukazaki Y., Nitta S., Senda N., Kamiguchi H., Satomi Y. Sasaki T., Yamada S., Nakai T., Kohriyama K., Kubo K., <b>Kazuki Y.</b> and Oshimura M., Simultaneous quantitation method for incretin and related peptides by LC-MS/MS equipped with ion mobility system (2012 MAY, Canada) 60<sup>th</sup> ASMS</p> <p>一般向け 計 2 件</p> <p>1. <b>香月康宏</b>、染色体工学技術を用いた生殖・発生毒性試験への応用 (2012 年 10 月東京) 第 23 回生殖・発生毒性学東京セミナー、参加人数 100 名</p> <p>2. <b>香月康宏</b>、染色体工学技術を用いたヒト化薬物代謝モデル動物の作製と創薬研究への応用 (2012 年 11 月東京) ディ・スリー研究所主催染色体工学技術を用いた創薬支援へ向けての講演会、参加人数 50 名</p>
<p>図書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 1 件</p>	<p>(取得済み) 計 1 件</p> <p>1. 発明の名称: ヒトチトクローム P450 遺伝子を含む哺乳動物人工染色体ベクター及びそれを保持する非ヒト哺乳動物; 特許出願人: 国立大学法人鳥取大学、株式会社 chromocenter; 発明者: 押村光雄、<b>香月康宏</b>、松岡 隆之、富塚一磨、大島毅; 特許第 4997544 号 (登録日 2012/05/25) 日本国内</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	鳥取大学広報、新聞掲載記事、 <a href="http://www.tottori-u.ac.jp/dd.aspx?menuid=1296">http://www.tottori-u.ac.jp/dd.aspx?menuid=1296</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「とっとりバイオフィロンティア」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1件	2012年8月11日 日本海新聞 サリドマイド奇形再現 鳥大助教グループ世界初、マウスで成功（鳥取大学大学院医学系研究科の香月康宏助教のグループ）
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24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	38,000,000	52,000,000	0
間接経費	35,100,000	8,100,000	11,400,000	15,600,000	0
合計	152,100,000	35,100,000	49,400,000	67,600,000	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	2,757,218	38,000,000	0	40,757,218	40,169,572	587,646	0
間接経費	2,724,965	11,400,000	0	14,124,965	10,191,148	3,933,817	0
合計	5,482,183	49,400,000	0	54,882,183	50,360,720	4,521,463	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	14,313,766	実験試薬、実験器具
旅費	1,502,470	学会参加旅費
謝金・人件費等	7,226,283	研究支援者に係る賃金
その他	17,127,053	動物飼育費、検査費用
直接経費計	40,169,572	
間接経費計	10,191,148	
合計	50,360,720	

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
				0		
				0		
				0		