

P1-033

ヒト初代培養肝細胞を用いた酵素誘導能の評価 -活性レベルでの評価-

田崎健二、野村和美、松本敏行、平山慎一郎、川上香織、杉本健二
株式会社パナファーム・ラボラトリーズ 分析代謝研究部

Evaluation of enzyme induction of cytochrome P450 activities in human primary
hepatocytes

Tasaki Kenji, Nomura Kazumi, Matsumoto Toshiyuki, Hirayama Shinichirou, Kawakami
Kaori, and Sugimoto Kenji

Analysis and Metabolism Division, Panapharm Laboratories Co. Ltd.

【緒言】

臨床において薬物は併用されることが多く、薬物相互作用の発現を予測することは、ヒトにおける薬物相互作用の発現の有無とその程度を確認するための臨床試験の実施についての判断材料を提供するものである。代謝における薬物相互作用の多くは、特にチトクロム P450 (P450) が関与する反応において現れることからよく知られている。薬物相互作用は阻害作用と誘導作用に大別され、誘導作用の評価には、従来、被験薬をラットなどの実験動物に反復投与して各肝薬物代謝酵素を測定する方法が用いられているが、薬物代謝酵素の発現調節機構に種差があるため、動物データからヒトへの予測については注意が必要である。今回、実験動物を用いた系からの代替法として、ヒト初代培養肝細胞を用いた酵素誘導試験法について検討した。

【方法】

ヒト非凍結肝細胞は供給源にてプレートに接着されたものを購入した。入手後、培地を交換し 1~数日間静置した後に、誘導剤を含む培地に交換して誘導剤を暴露した。暴露時間は、1 日 1 回の培地

交換で 3 日間とした。次いで P450 指標活性の基質を含む培地に交換し、所定時間反応させた後の培地中に含まれる代謝物の生成を定量することにより、活性レベルで誘導能を評価した。ヒト凍結肝細胞については、融解後プレートに播種し、1~2 日間で細胞が接着していることを確認してから用いた。

【結果・考察】

典型的誘導剤であるリファンピシン、フェノバルビタールまたは β -ナフトフラボンなどを細胞に暴露し、P450 指標活性の上昇の程度から、適切な陽性対照物質を選定した。CYP3A4 の指標活性であるテストステロン 6 β -水酸化活性については、20 μ mol/L リファンピシンが最も強く誘導した。リファンピシンは CYP3A4 のほか、CYP2C8 及び CYP2C19 の陽性対照物質に、フェノバルビタール (2 mmol/L) は CYP2B6 及び CYP2C9 の陽性対照物質に、 β -ナフトフラボン (20 μ mol/L) は CYP1A2 の陽性対照物質に使用するのが適切と判断した。また、CYP3A4、CYP1A2 などの酵素誘導法の評価法を紹介する予定である。