In vitro ヒトCYP誘導試験

ヒト凍結または非凍結肝細胞を用い、被験物質の代謝酵素誘導能を評価します。

方法

細胞播種（細胞播種用培地）
- 4時間

培地交換（培養用培地）
- 24～48時間
- 培地は24時間毎に交換

誘導剤暴露（誘導剤含有培養用培地）
- 48～72時間
- 培地は24時間毎に交換

基質代謝反応（基質含有培養用培地）
- 基質
  - Phenacetin
  - Bupropion
  - Testosterone
  - Diclofenac
  - S-Mephenytoin

分析（LS/MS/MS）

評価内容

mRNA発現量
酵素活性（LC/MS/MSで測定）

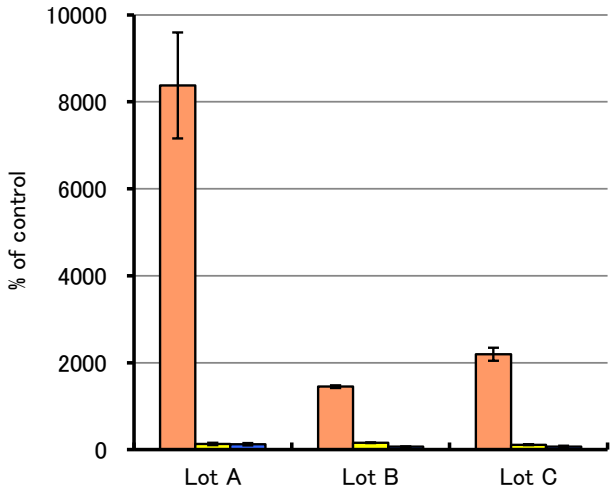
分子種	指標活性	陽性対照
CYP1A2	Phenacetin *O*–deethylation	Omeprazole
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	Phenobarbital
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	Rifampicin
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylation	Rifampicin
CYP2C19	(*S*)-Mephenytoin 4'-hydroxylation	Rifampicin

結果　例：誘導の特異性

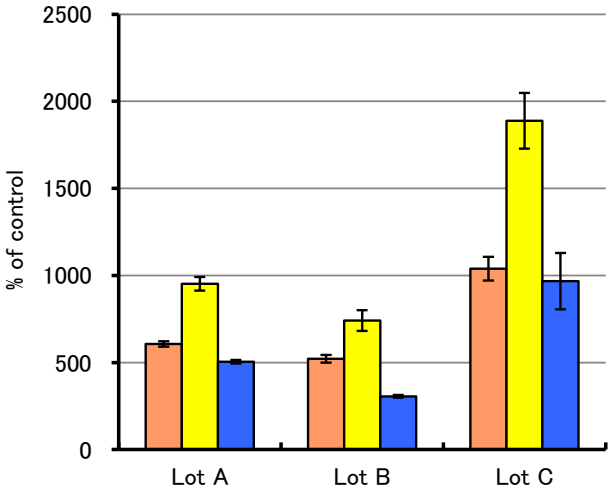
薬物	主な誘導分子種	暴露濃度
DMSO	―	―
Omeprazole	CYP1A	50 μmol/L
Phenobarbital	CYP2B6	1000 μmol/L
Rifampicin	CYP3A	10 μmol/L

遺伝子発現量

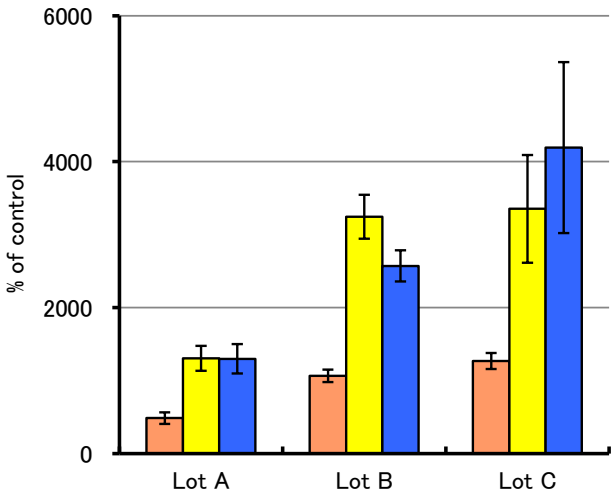
CYP1A2



CYP2B6



CYP3A4



Omeprazole
Phenobarbital
Rifampicin

Exposure time: 48h
Hepatocyte: Cryopreserved