

●HepaRG®細胞を用いた CYP 誘導能評価試験

TN397

Evaluation of CYP Induction Using HepaRG® Cells

[概要]

ヒト肝腫瘍由来細胞株である HepaRG®細胞はヒト肝細胞様形態を呈し、各種肝機能を保持・発現していることから、ヒト肝細胞の代替ツールとして薬物動態および毒性試験等の研究に利用されています。HepaRG®細胞は凍結ヒト肝細胞において問題となる細胞ロット間差が小さく、細胞入手が容易であることから、創薬初期段階での CYP 誘導能評価試験に適した細胞です。当社では、HepaRG®細胞を用いた CYP 誘導能評価試験（酵素活性値レベルおよび mRNA レベル）に関する受託サービスを行っております。以下に、当社の実施例をお示しします。

[実施例]

72 時間培養にて肝細胞様形態を呈した HepaRG®細胞に、CYP1A2、2B6 および 3A4 の代表的な誘導剤である Omeprazole、Phenobarbital および Rifampicin をそれぞれ 48 時間処置しました。酵素活性値レベルより、凍結ヒト肝細胞と同程度の酵素誘導能を HepaRG®細胞において確認することができました（図 1）。

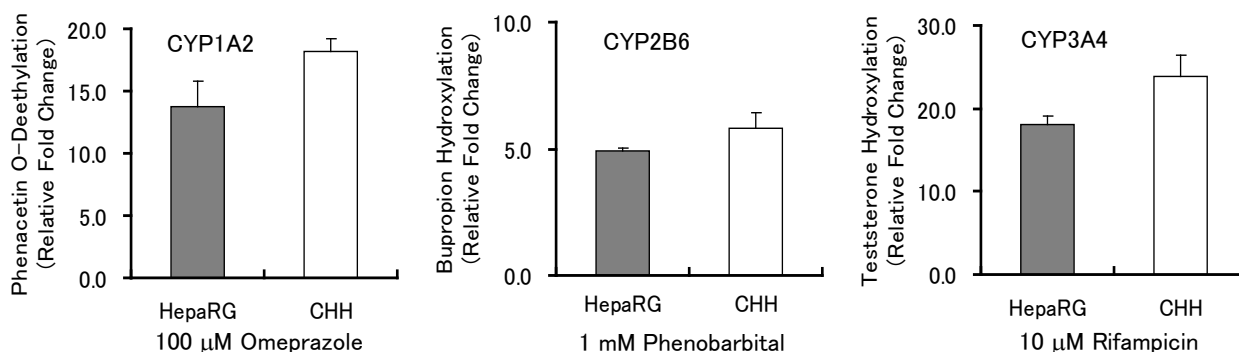


図 1. HepaRG™細胞 (GIBCO, Lot No. 1111598) および凍結ヒト肝細胞 (CHH) (Celsis In Vitro Technologies, Lot No. OHO) の CYP 誘導能比較 (CYP1A2, 2B6, 3A4)

さらに CYP3A4 誘導能を指標とした用量反応曲線より、数種類の市販化合物について EC₅₀ 値および E_{max} 値を求めることができました（図 2）。HepaRG®細胞に対し Rifampicin を処置した際の EC₅₀ 値は 0.6 μM であり、

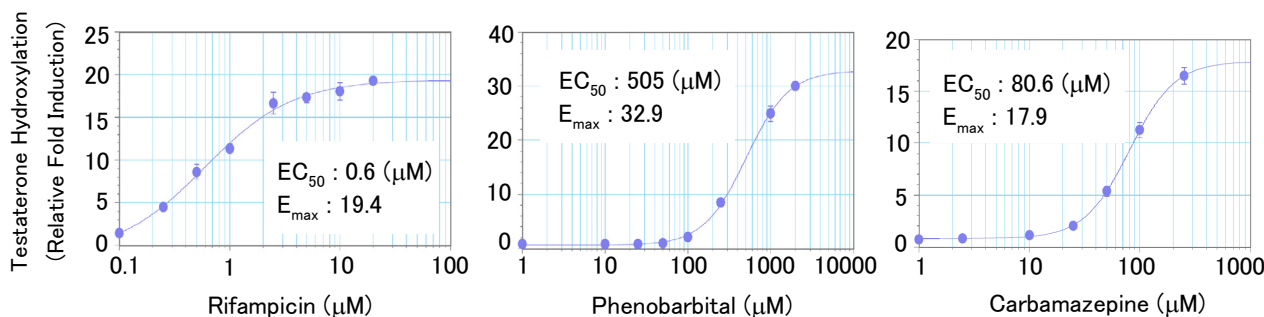


図 2. CYP3A4 誘導に関する用量反応曲線 (Rifampicin、Phenobarbital、Carbamazepine)

この結果は、同じく凍結ヒト肝細胞に Rifampicin を処置した際に得られる EC_{50} 値 ($0.6 \mu\text{M}$)¹⁾ と良く一致しています。用量反応曲線より得られた EC_{50} 値および E_{max} 値に、化合物の有効血中濃度 (C_{eff}) を考慮することで Relative Induction Score [$\text{RIS} = (C_{\text{eff}} \times E_{\text{max}}) / (C_{\text{eff}} + EC_{50})$] を算出することが可能です²⁾。RIS は、CYP 誘導による相互作用リスクを定量的に予測するための指標として用いられています。図 3 は、化合物を併用した際の Ethinyl Estradiol の AUC 減少率 (%)³⁾ と、各化合物より算出した RIS をそれぞれプロットしたものです。誘導剤併用による AUC 減少率 (%) と、RIS の間には正の相関関係が認められました。

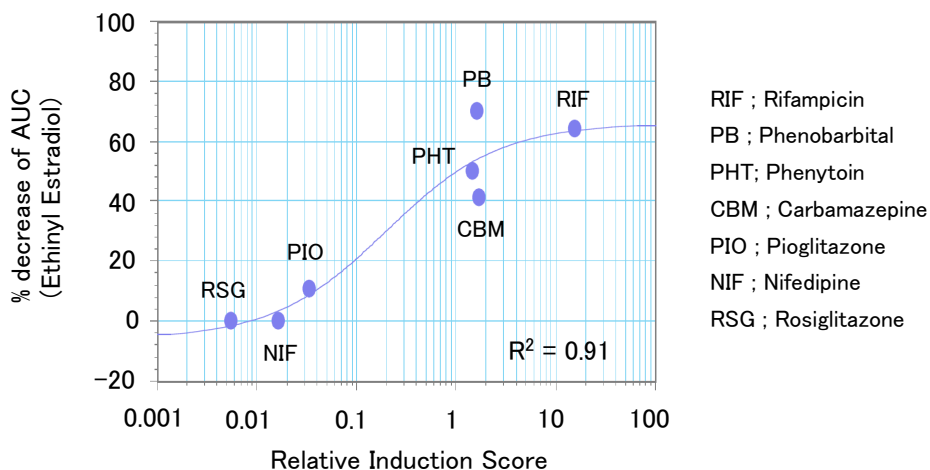


図 3. *in vivo-in vitro* 相関 (% decrease of AUC³⁾ 対 RIS, 4-Parameter Logistic 式より)

このように、HepaRG[®]細胞を用いた *in vitro* CYP 誘導試験に加えて、ヒト PK 予測（有効血中濃度）を実施することにより、酵素誘導による相互作用リスクを定量的に予測することが可能となります⁴⁾。以上の結果から、CYP 誘導能評価試験における HepaRG[®]細胞の有用性について検証することができました。

※HepaRG[®]は BIOPREDIC 社の登録商標です。

[参考文献]

- 1) McGinnity, et. al. *Drug Metab Dispos* (2009), 37, 1259–1268.
- 2) Kato, et. al. *Drug Metab Pharmacokinet* (2005), 20, 236–243.
- 3) Ripp, et. al. *Drug Metab Dispos* (2006), 34, 1742–1748.
- 4) Kanebratt, et. al. *Drug Metab Dispos* (2008), 36, 137–145.

[関連技術リンク]

ヒト肝細胞を用いた *in vitro* CYP 誘導能評価系の構築

<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn394.pdf>

BioPlex 200 を用いた蛍光マイクロビーズ法による mRNA 発現解析

<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn391.pdf>