

1H NMR を用いた HepG2 細胞のメタボロミクス：APAP の影響

○太田 庸介¹, 大野 彰子¹, 石田 誠一¹, 黒田 幸恵¹, 栗原 正明¹, 関野 祐子¹, 齋藤 嘉朗¹, 福原 潔¹(¹国衛研)

【目的】近年、病態解明や薬物の安全評価等の医学分野にメタボロミクスが応用されている。我々はアセトアミノフェン (APAP) のラット肝障害モデルの血漿及び尿について 1H NMR によるメタボロミクスを行い、肝毒性発現機構を明らかにしてきた¹⁾。今回、我々はヒト肝細胞 (HepG2) への APAP の影響の解明を目的として、細胞レベルでのメタボロミクスを検討した。

【方法】毒性評価のモデル細胞として知られている HepG2 細胞に 0 及び 2.5 mM APAP を添加し、培養した。その後、細胞を CDCl₃/MeOD/MilliQ により抽出して、代謝物を脂溶性画分 (CDCl₃) と水溶性画分 (MeOD/MilliQ) に分けた。各画分を濃縮後、一定量希釈 (脂溶性画分; CDCl₃、水溶性画分; PB) し、600 MHz NMR で 1H NMR スペクトルを測定した。各々のスペクトルは多変量解析ソフト SIMCA-P+ を利用して、代謝物の網羅的な解析を行った。

【結果】統計解析 (OPLS-DA) の結果、脂溶性及び水溶性画分でそれぞれ対照群と APAP 添加群の 2 群にグループ分離した (Figure 1)。さらに S-plot により APAP 添加による毒性発現に寄与する信頼性の高い代謝物の増減を確認し、特に APAP 添加により HepG2 細胞の脂質類の増加が顕著に観察された。

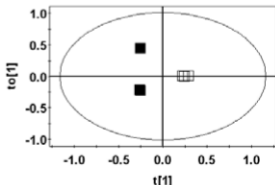


Figure 1. OPLS-DA の一例; 脂溶性画分 (■対照群、□APAP 添加群)

1) *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2011, 26, 399-406.