

21PO-am396S

LC-MS/MS 法を用いた肝細胞中主要 CYP 分子種誘導能評価

○高田 麻衣花¹, 山田 泰弘², 竹内 敦子¹ (¹神戸薬大, ²日本薬大)

【目的】シトクロム P450(CYP)は主として薬物代謝に関与する酵素であり、その代謝活性は酵素タンパク質量と関係があるので、CYP タンパク質含量を定量することで、併用薬による CYP 誘導を評価できる。一般的に、薬物による CYP への影響は western blotting(WB 法)による CYP タンパク質定量、または RT-PCR による CYP mRNA 定量が主流である。しかしながら、WB 法は様々なデメリットがある。我々は LC-MS/MS を用いることにより、WB 法のデメリットを補完した定量法を確立し、薬物による肝細胞中主要 CYP 分子種誘導能評価が可能かどうかを検討した。

【方法】1)定量:肝細胞の CYP をトリプシンで処理をして、ペプチドに消化した。LC-MS/MS を用いて Selected Reaction Monitoring(SRM)、ポジティブモードで CYP1A2、2C9、2C19、2D6、3A4 の各分子種に特異的な配列のペプチドを測定し、一斉定量を行った。2)薬物の誘導能評価:肝細胞を 10 μ M リファンピシン暴露群、50 μ M オメプラゾール暴露群、1mM フェノバルビタール暴露群 (いずれも 3 日間暴露) 及びそれぞれのコントロール群を作成した後に、1)の方法で定量を行った。

【結果・考察】1) 定量:LC-MS/MS で最適条件での分析により、CYP1A2、2C9、2C19、2D6、3A4 はクロマト上、いずれも単一ピークとして認められ、定量可能であった。また、各々の検量線はいずれも良好な直線性を示した。2) 薬物の誘導能評価:薬物暴露群の肝細胞中 CYP 量をそれぞれのコントロール群と比較した。その結果、リファンピシンとフェノバルビタール暴露群の CYP3A4 とオメプラゾール暴露群の CYP1A2 において増加がみられ、2D6 の増加はいずれの暴露群でもみられなかった。この結果から、LC-MS/MS による各 CYP 分子種タンパク質含量の一斉定量法は、薬物による各 CYP 分子種の誘導能評価が可能であることが明らかとなった。