

P-137

Adaptor-tagged competitive PCR (ATAC-PCR)法を用いたラット初代肝細胞培養系での遺伝子発現変動の評価

○富澤香織, 山田 弘, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部

【目的】遺伝子発現の変動を指標とした毒性評価系への適用を検討するために、肝障害惹起薬物曝露によるラット初代肝細胞培養系での遺伝子発現変化を ATAC-PCR 法を用いて測定した。ATAC-PCR は、競合的 PCR の一種で、微量な RNA 量で複数の組織間の発現頻度を一度に測定することが可能である。【方法】5 週齢の雄性 IGS ラットの肝臓よりコラゲナーゼ灌流法で肝細胞を単離し、コラーゲン タイプ I コートディッシュに播種した。用量設定試験として前培養 2 時間後にアセトアミノフェン (75~6000 $\mu\text{g/ml}$) を溶解した培養液に交換し、24 時間培養後に培地上清中の LDH 活性を測定した。これらの結果を元に LDH 活性の上昇が認められた濃度 (1500 $\mu\text{g/ml}$) と活性上昇の認められない濃度 (150 $\mu\text{g/ml}$) のアセトアミノフェンを含む培地にて 3 及び 6 時間培養後、肝細胞から抽出した RNA をサンプルとして遺伝子発現変動を測定した。【結果】今回検討した 343 遺伝子中、各曝露群で約 20% の遺伝子にコントロール (アセトアミノフェン無処理群) と比較して 1.5 倍以上の発現変化を認めた。高濃度曝露群と低濃度曝露群との遺伝子発現変動の比較により、変化が見られた遺伝子の中には肝再生関連遺伝子、アポトーシス・サイトカイン関連遺伝子群が含まれており、これらの遺伝子群にはアセトアミノフェン肝障害に関連すると考えられるマーカー遺伝子が含まれていることが示唆された。

Gene expression analysis on the rat primary cultured hepatocytes treated with acetaminophen using Adaptor-tagged competitive PCR

○Kaori TOMIZAWA, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Aichi, Japan