

P7-24 初代培養系を用いた肝細胞毒性スクリーニング系の検討

○吉川 理恵、福島 民雄、山本 利憲、堀井 郁夫

ファイザー（株）中央研究所 安全性研究統括部

Investigation of the Hepato-Toxicity Screening system in primary cell culture

○Rie KIKKAWA、Tamio FUKUSHIMA、Toshinori YAMAMOTO、Ikuo HORII

Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc., Aichi, Japan

一般演題（ポスター）

【目的】近年医薬品開発における安全性評価は、創薬早期に多種類の化合物を短期間に評価することが求められており、*in vivo*の毒性を反映する*in vitro*スクリーニング系の確立が必要とされている。*in vitro*での細胞障害性の検出にはミトコンドリア呼吸能、LDH漏出量、ATP抑制量の測定などの報告がある。今回、医薬品開発において問題視される肝毒性を標的とし、肝細胞における毒作用のスクリーニング系確立のための細胞毒性検出を目的として、LDH漏出量およびミトコンドリア呼吸能の測定（WST-1 reduction assay）について検討を行なった。【方法】4-6週齢の雄のCrj:CD (SD) IGSラットより、肝細胞をコラゲナーゼ灌流法にて採取し、コラゲンコート処理96穴マイクロプレートに播種した。3時間の前培養後に肝毒性を惹起することで知られている各種化合物（アセトアミノフェン、アミオダロン、テトラサイクリン、四塩化炭素）に暴露し、3、6、24時間後にミトコンドリア呼吸能および培地へのLDH漏出量の測定を行なった。【結果】LDHの漏出量は、化合物暴露後3および6時間では化合物暴露群と陰性コントロール群に大きな差は認められなかったが、化合物暴露後24時間において用量依存性に上昇が認められた。一方、ミトコンドリア呼吸能は、化合物暴露後3時間から用量依存性に低下が認められた。【結論】LDH漏出量は細胞膜の破壊を起こしている段階での検出であるのに対しミトコンドリアの呼吸能低下は細胞機能に発現している早期の毒性を検出しているために、より短い暴露時間で変化が認められたと考えられる。細胞機能毒性検出の指標としてミトコンドリア呼吸能を用いることは*in vitro*スクリーニング系の確立に有用であると考えられる。現在、他のトキシコゲノミクス関連のバイオマーカーについても検索中である。