

In vitro 薬物相互作用試験

—CYP阻害・誘導およびDNAチップを用いた解析—

日米欧3極の薬物相互作用ガイドライン/ガイダンスに沿った*in vitro* シクロクロムP450(CYP)代謝阻害およびCYP誘導について紹介する。さらに、誘導試験のオプションとして、DNAチップを用いたmRNAおよびマイクロRNA変動の網羅的解析を実施することが可能となった。

In vitro 薬物相互作用試験

医薬品の承認申請に求められる薬物相互作用試験のうち、以下を実施可能
—医薬品信頼性基準対応, 日米欧ガイドライン/ガイダンス準拠—

◆代謝酵素阻害試験

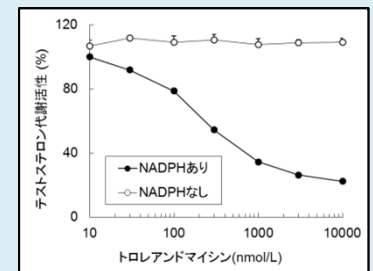
- 対象酵素: CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4
- 評価方法: 直接阻害、時間依存的阻害
- 酵素源: ヒト肝ミクロソーム

◆代謝酵素誘導試験

- 対象酵素: CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4
- 評価方法: リアルタイムPCR法によるmRNA定量
- 酵素源: ヒト凍結初代培養肝細胞(3ロット以上)

【実施例】

CYP3A4によるテストステロン代謝に対するトロレアンドマイシンの時間依存的阻害



日本: 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン(最終案)(2014)

米国: Guidance for industry, "Drug Interaction Studies –Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and labeling Recommendations", draft, (2012)

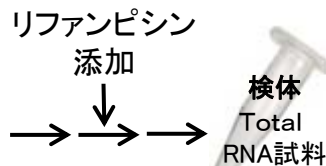
欧州: Guideline on the Investigation of Drug Interactions, (2012)

DNAチップを用いたmRNAおよびマイクロRNA変動の網羅的解析

CYP誘導試験のオプションとして、ヒト肝細胞から抽出されたTotal RNA試料の一部を、東レで開発された高感度DNAチップ(3D-Gene®)に供し、mRNAおよびマイクロRNAの網羅的な変動解析を行う。CYP以外の代謝酵素、トランスポーター等の薬物動態関連遺伝子や、細胞毒性、薬効薬理に関連した遺伝子の解析が可能となった。

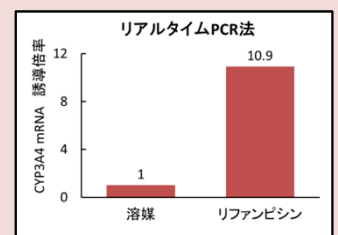
【実施例】

ヒト凍結初代培養肝細胞



通常

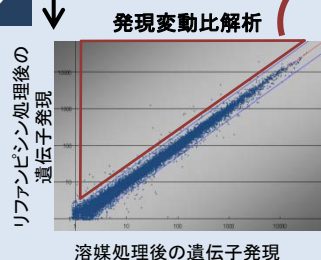
リアルタイムPCR法
目的のmRNAのみ定量



オプション

DNAチップ法

mRNA(約25000遺伝子)、
マイクロRNA(約2600遺伝子)
を網羅的に解析



増強された遺伝子

遺伝子	変動比
CYP	7
UGT	1
その他の酵素	0
トランスポーター	2
その他/機能不明	30
合計	40

CYP3A4の例

