

「BSEPにおける各種薬剤の肝毒性スクリーニング法の開発」

研究者名: 小田 佳奈
所属・役職: 北海道医療大学薬学部・特別研究員
共同研究者:

T-1
-29

研究分野

分析化学

研究キーワード

胆汁酸
トランスポーター
BSEP
蛍光標識化胆汁酸

背景・目的

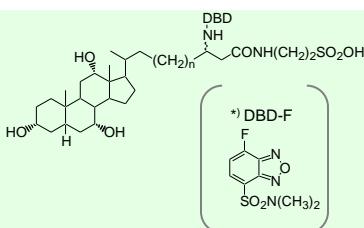
薬剤の臓器移行性を制御する各種トランスポータータンパク質の輸送機能は、薬剤の毒性と密接に関与し、その輸送活性測定は各種化合物の毒性評価に極めて重要な情報を提供する。本研究では、各種蛍光標識化胆汁酸をプローブとするBSEPの輸送活性測定法の開発を行い、簡便かつ迅速な各種化合物の肝毒性スクリーニング法への展開を図ることを目的とする。

研究の成果

ヒトBSEPベシクル輸送活性測定の蛍光プローブとして新規蛍光標識化胆汁酸の合成を行った (Fig.1,1および2)。これらのヒトBSEPベシクルに対する反応性について精査したところ、輸送活性値並びに親和性等は非標識体であるタウロコール酸(T-CA)とほぼ同様であり(Table1)、今回合成した蛍光標識化胆汁酸はBSEP輸送活性測定の指標として利用可能であることが判明した。さらに、本蛍光標識体(2)をプローブとするヒトBSEPベシクルの簡易活性測定法の開発を行い、各種医薬品におけるBSEP輸送阻害活性評価のスクリーニング法への適用を検討した。その結果、各種医薬品によるBSEP阻害活性は ^3H -標識T-CAをプローブとして利用した場合と同様な結果を与え、BSEP輸送阻害活性評価のスクリーニング法として適用可能であることが示唆された。

将来展望

本研究で開発したBSEPベシクルの簡易輸送活性測定法は、汎用性および簡便性に優れ、臨床、医薬品開発のみならず、基礎研究分野においてもその利用価値は高く、BSEPの機能解明の一助として極めて有用な知見を提供するものと期待される。また、本蛍光標識化胆汁酸は、ヒトBSEPIに限らず、他の肝排泄あるいは吸収に関与するトランスポーターにおいてもトランスポーターとして利用できる可能性があり、臨床および医薬品開発時の肝毒性スクリーニング法への展開が期待される。



1: n = 0, T-homo-CA-23-DBD
UV-vis (MeCN): λ_{max} , 435 nm (ϵ = 7472), 250 nm (ϵ = 13675)
FL (MeCN): λ_{max} , excitation 454 nm, emission 570 nm

2: n = 1, T-nor-THCA-24-DBD
UV-vis (MeCN): λ_{max} , 434 nm (ϵ = 8476), 252 nm (ϵ = 14153), 233 nm (ϵ = 15106)
FL (MeCN): λ_{max} , excitation 454 nm, emission 570 nm

Fig.1 Fluorescent Bile Acids

Table1. Comparison of Measurement of the Transport Activity of T-homo-CA-23-DBD (1) and T-nor-THCA-24-DBD (2) by hBSEP-expressing Membrane Vesicles

Bile acid	K_m (μM)	V_{max} (pmol/min/mg protein)	V_{max}/K_m ($\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg protein}$)
T-CA	19.0 \pm 2.3	435 \pm 15	23 \pm 3
T-homo-CA-23-DBD (1)	27.2 \pm 5.5	897 \pm 91	33 \pm 8
T-nor-THCA-24-DBD (2)	23.1 \pm 1.6	623 \pm 22	28 \pm 2

The Membrane vesicles (50 μg of protein) from hBSEP-expressing Sf9 cells were incubated in transport buffer (pH 7.4) containing various concentration of bile acids for 2 min at 37°C in the presence of 4 mM ATP or AMP. Results are shown as ATP-dependent transport, calculated by subtracting the transport in the presence of AMP from that in the presence of ATP. Each point and vertical bar represent the mean \pm S.D. of 3 determinations.