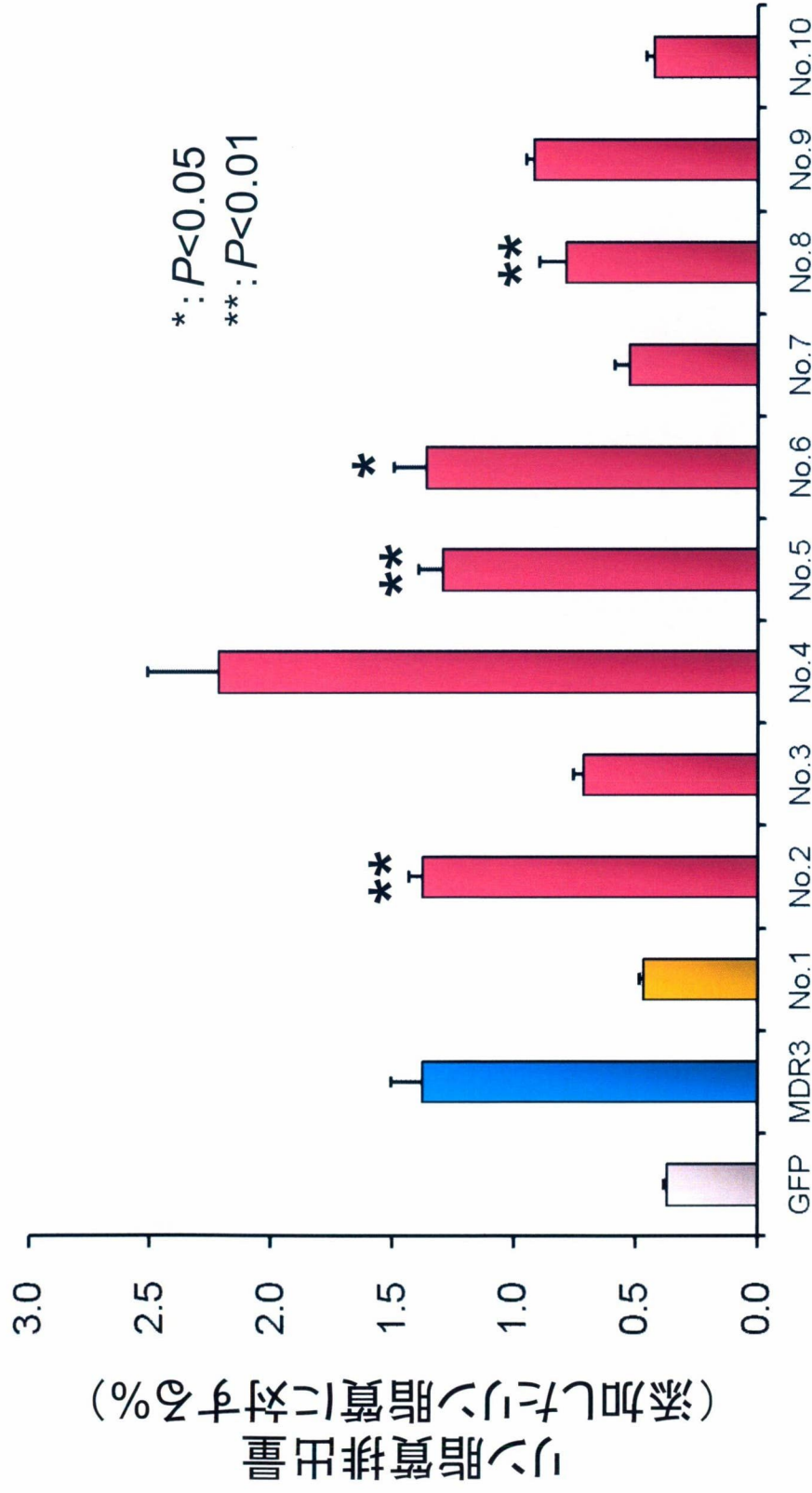
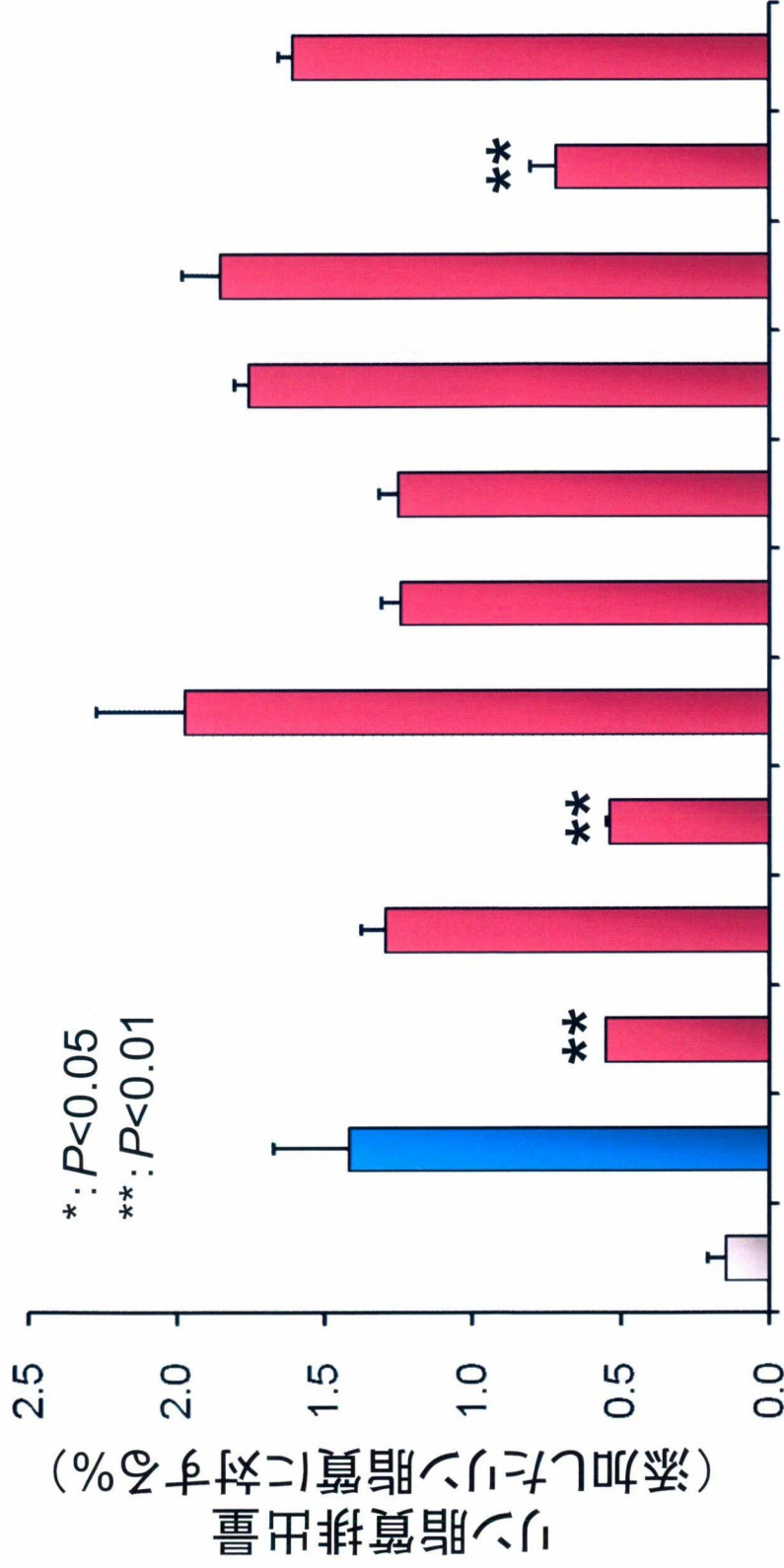


MDR3によるリン脂質排出を指標とした胆汁うっ滞誘発薬物のスクリーニング



GFP:コントロール細胞、MDR3:MDR3発現細胞
 論文投稿準備中のため、具体的な化合物名は伏せた

MDR3によるリン脂質排出を指標とした 胆汁うっ滞誘発薬物のスクリーニング(続き)



GFP MDR3 No. 11 No. 12 No. 13 No. 14 No. 15 No. 16 No. 17 No. 18 No. 19 No. 20

GFP:コントロール細胞、MDR3:MDR3発現細胞

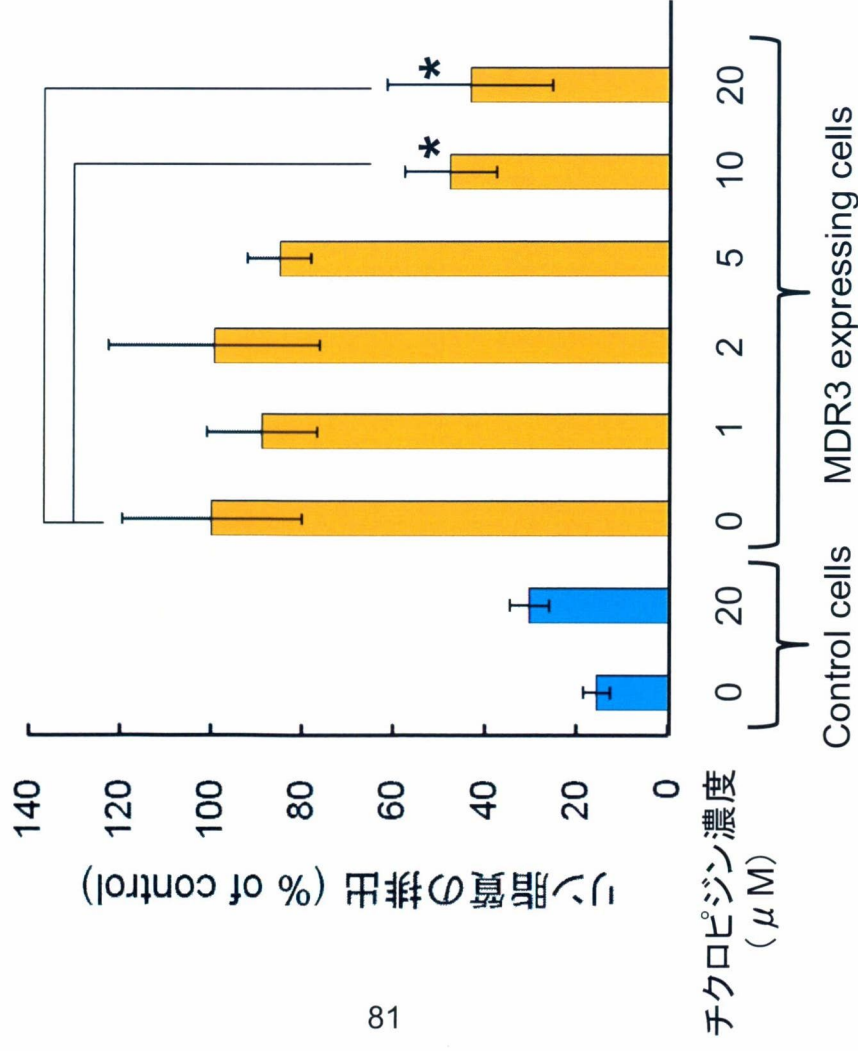
論文投稿準備中のため、具体的な化合物名は伏せた

胆汁うっ滞誘発薬物にはMDR3を阻害する物が存在し、胆汁中へのリン脂質排出阻害が発症メカニズムの一つとなることが示唆された。

In vitroにおけるチクロピジンの作用

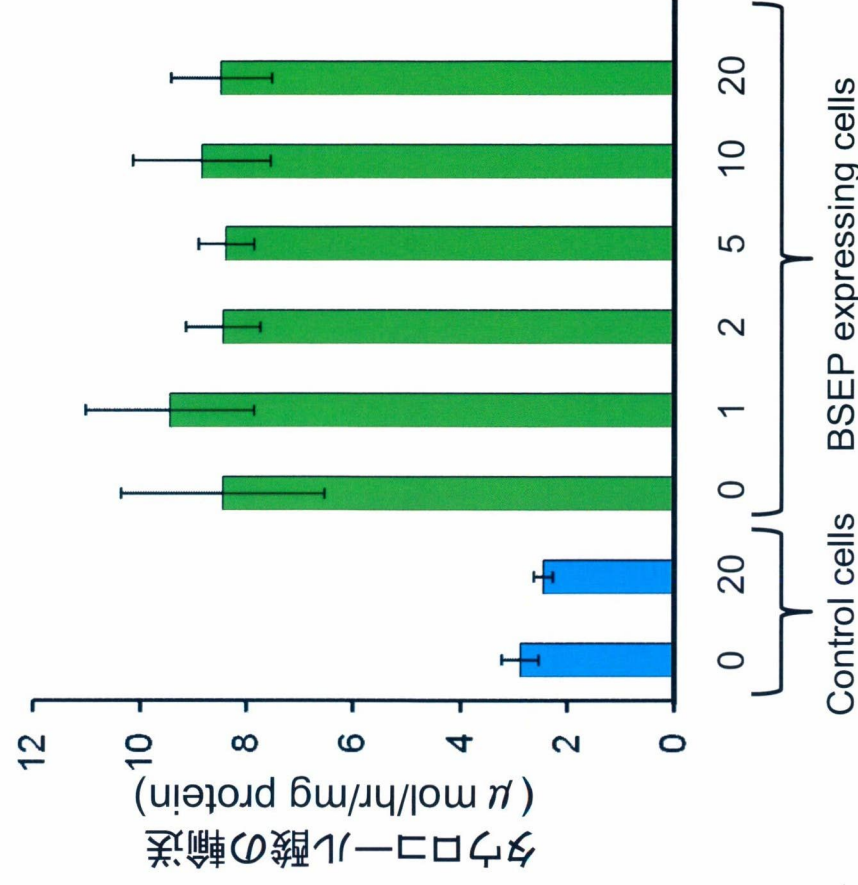
MDR3による

リン脂質排出実験



BSEP/NTCPによる

タウロコロール酸輸送実験

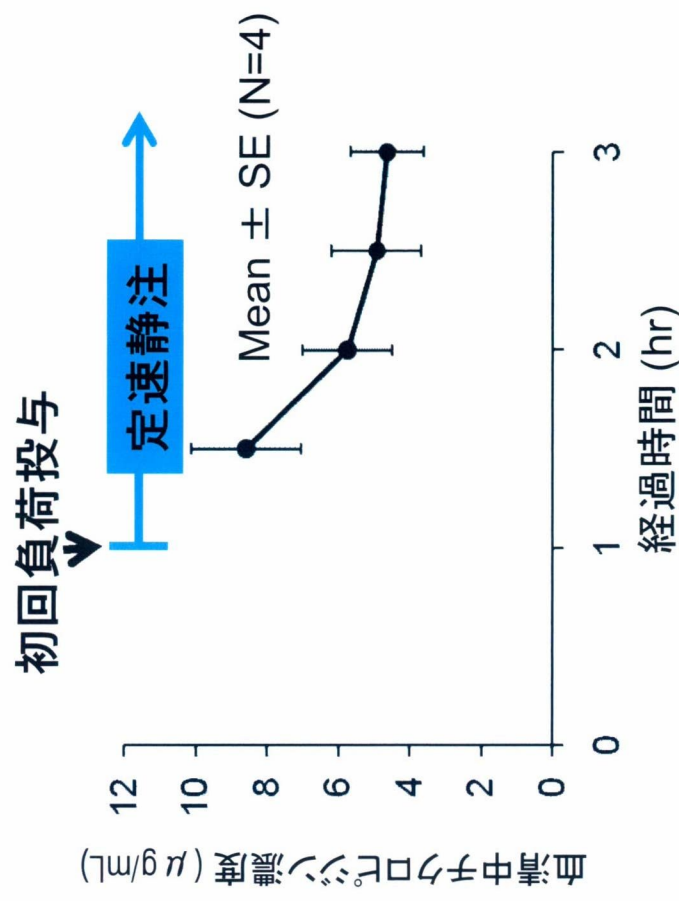
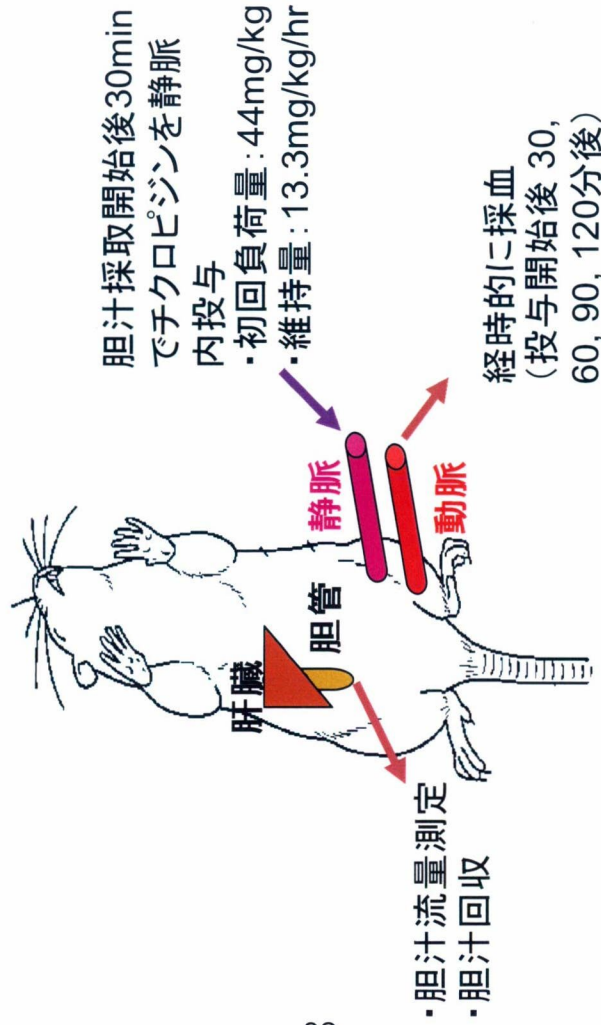


チクロピジン添加により、MDR3によるリン脂質の輸送に対する阻害は見られた一方、BSEPによる胆汁酸の輸送に対しては阻害作用は見られなかった。

胆汁流量、胆汁組成に対するチクロピジンの影響

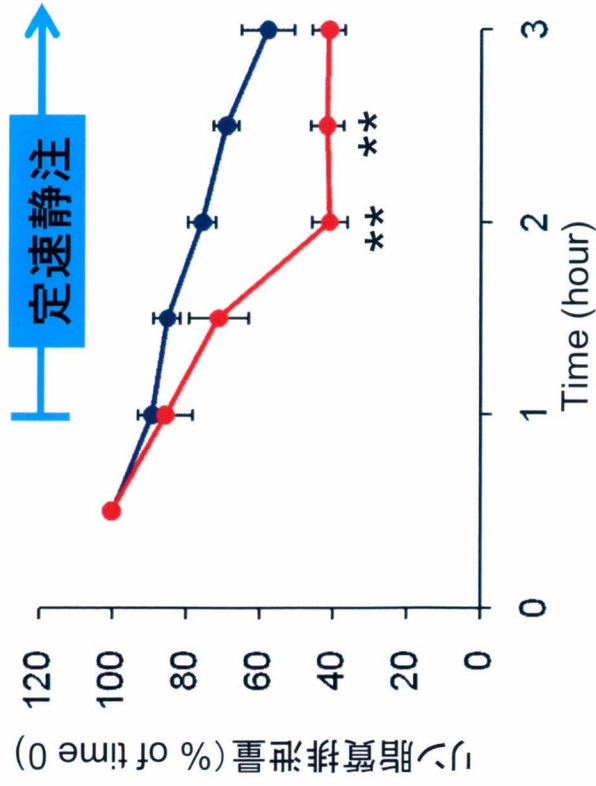
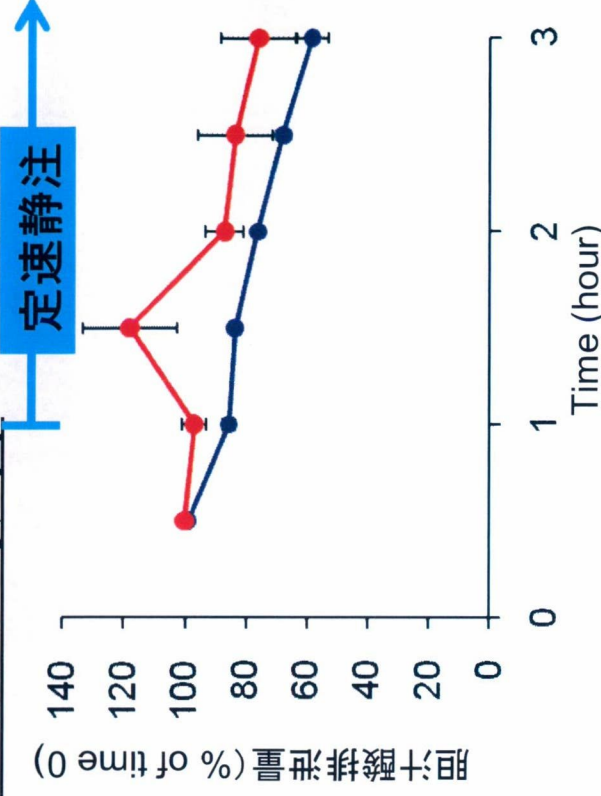
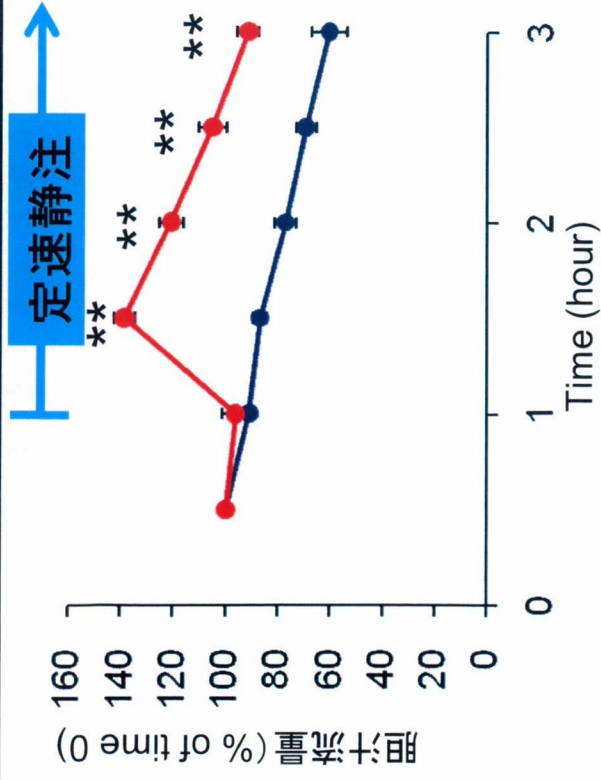
- ラットを用いた検討 -

【実験方法】



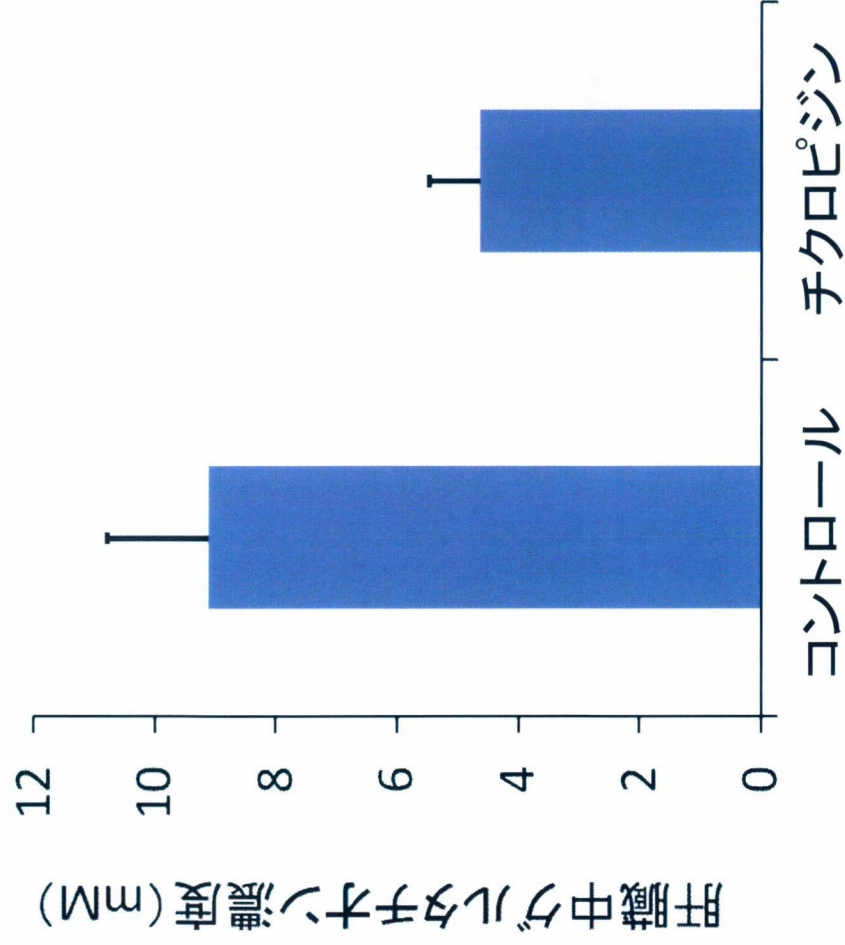
ラットをウレタンで麻酔後、大腿動静脈および胆管にカニューレーションを施した。胆汁採取開始から30min後にチクロピジンを投与し、チクロピジン投与から2hrまで経時的に採血、胆汁流量測定および胆汁採取を行った。血清中チクロピジン濃度はLC-MS/MSにより測定した。胆汁中の総胆汁酸濃度およびリン脂質濃度は和光純薬より購入した測定キットを使用して測定した。

胆汁分泌に対するチクロピジンの影響



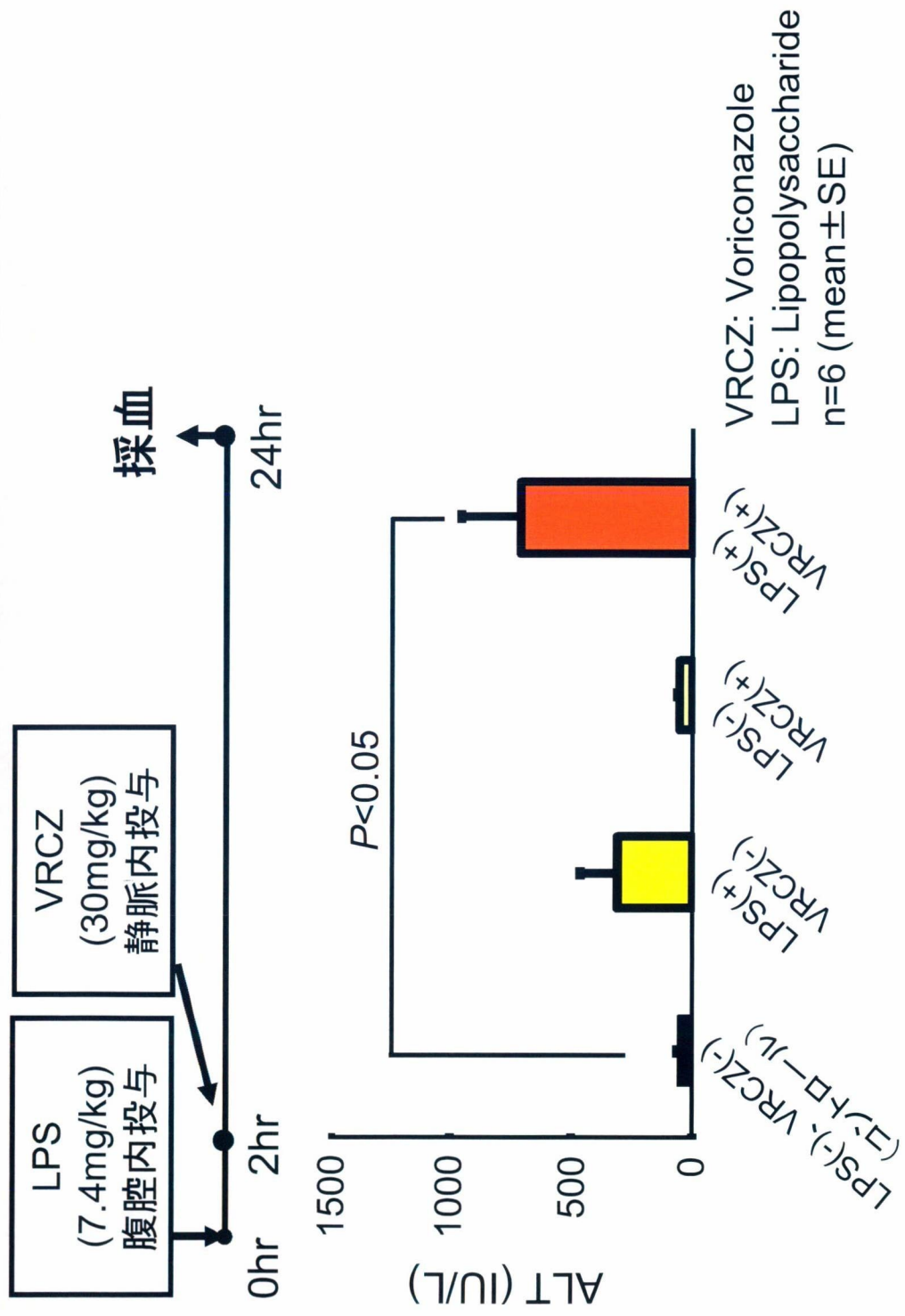
チクロピジンは胆汁酸分泌は阻害せず、リン脂質の胆汁への排泄を強く阻害した。

肝臓中グルタチオン濃度に対するチクロピジンの影響



チクロピジンの投与により、肝臓中グルタチオン濃度は低下した。

臨床で使用される薬物による肝障害モデルラットの作成

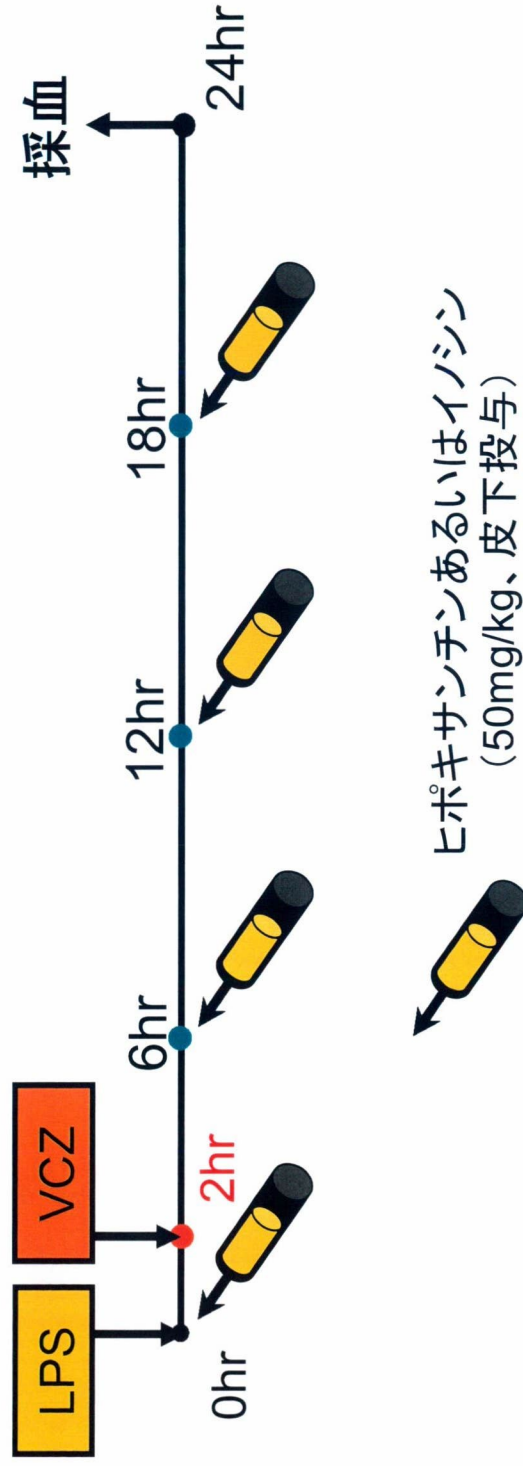


LPSを前感作させることにより、臨床におけるDILI症例の報告が多い薬物であるVRCZ誘発性のDILIモデルラットを構築した。
VRCZ誘発性DILIはマーカーの推移から肝細胞障害型と考えられた。

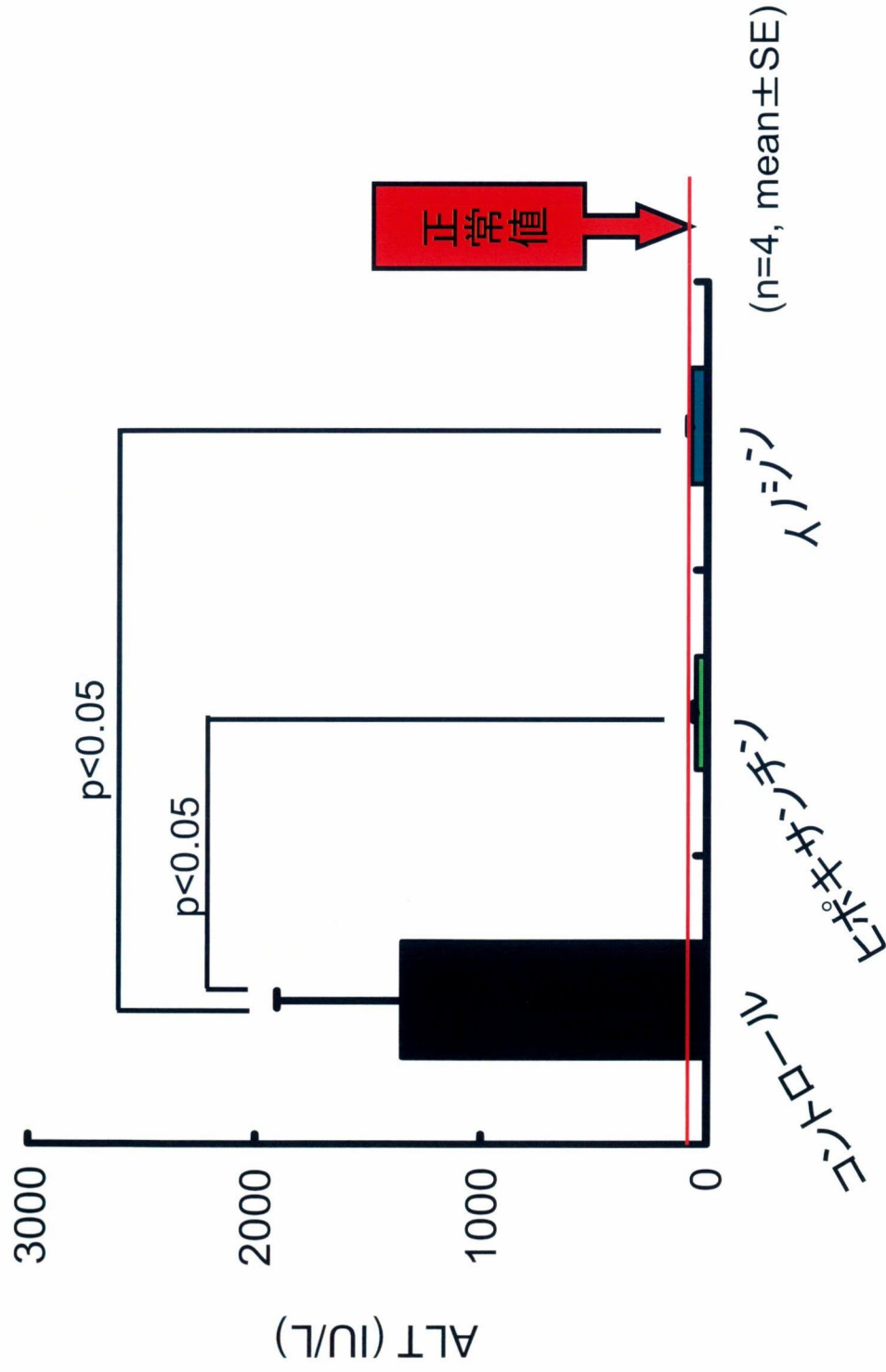
VRCZ誘発性DILIモデルラットにおけるヒポキサンチンの 肝障害改善作用の検討

【実験目的】
ANITあるいはCCl₄誘発性肝障害モデルラットにおいて観察されたヒポキサンチン、イノシンの肝障害改善作用がVRCZ誘発性DILIモデルラットでも認められるかどうか検討する。

【実験方法】
下記タイムコースに従い、VRCZ投与ラットに対してヒポキサンチン(50mg/kg)を6hr毎に合計4回皮下投与し、24hr後に肝機能マーカーを測定した。



VRCZ誘発性DILIモデルラットにおけるヒポキサンチンの 肝障害改善作用の検討(続き)

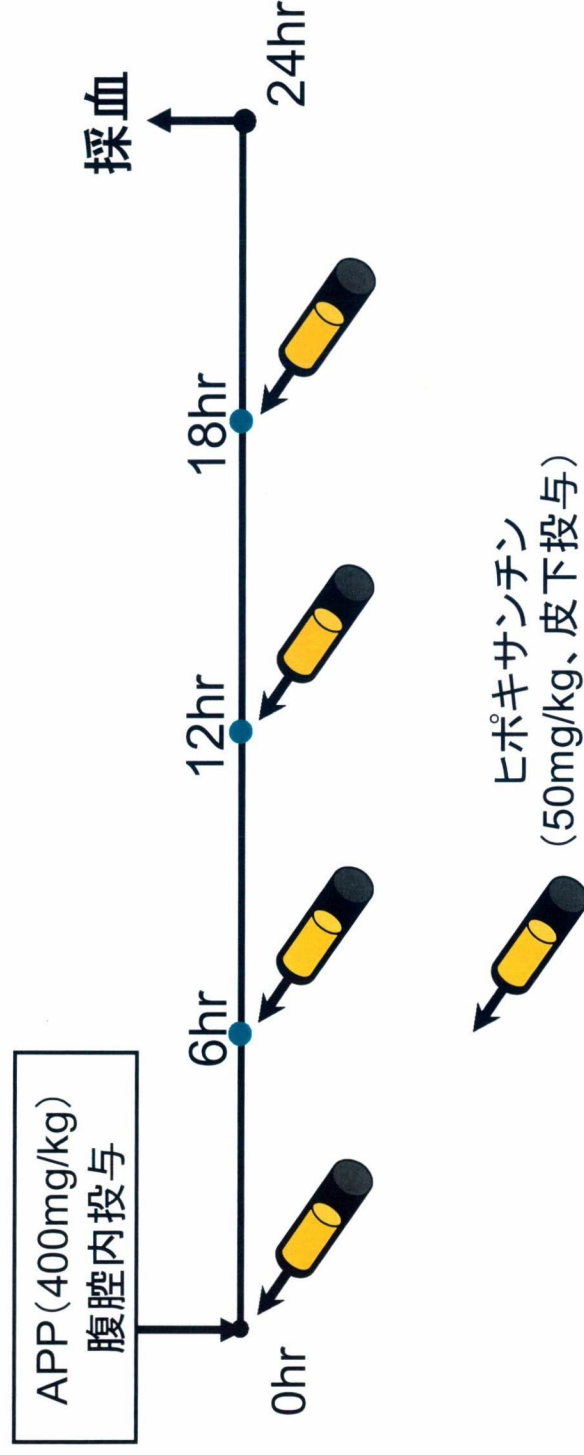


ヒポキサンチンは、VRCZ誘発性DILIモデルラットにおいても、
肝障害改善効果を示した。

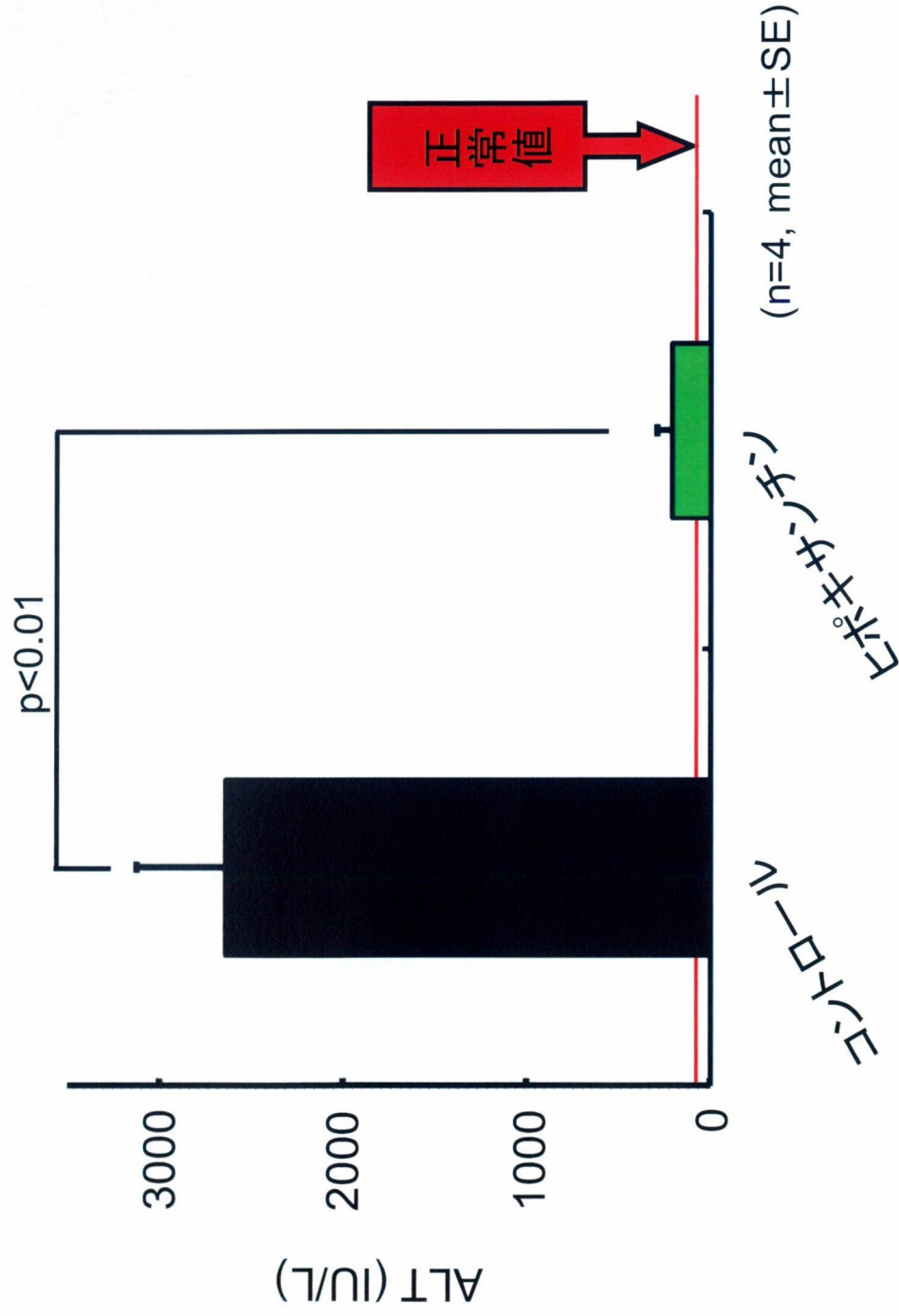
APP誘発性DILIモデルラットにおけるヒポキサンチンの 肝障害改善作用の検討

【実験目的】
ヒポキサンチンの肝障害改善作用がアセトアミノフェン(APP)誘発性DILIモデルラットでも、VRCZ誘発性DILIモデルラット同様に認められるかどうか検討する。

【実験方法】
下記タイムコースに従い、APP投与ラットに対してヒポキサンチン(50mg/kg)を6hr毎に合計4回皮下投与し、24hr後に肝機能マーカーを測定した。



APP誘発性DILIモデルラットにおけるヒポキサンチンの 肝障害改善作用の検討(続き)



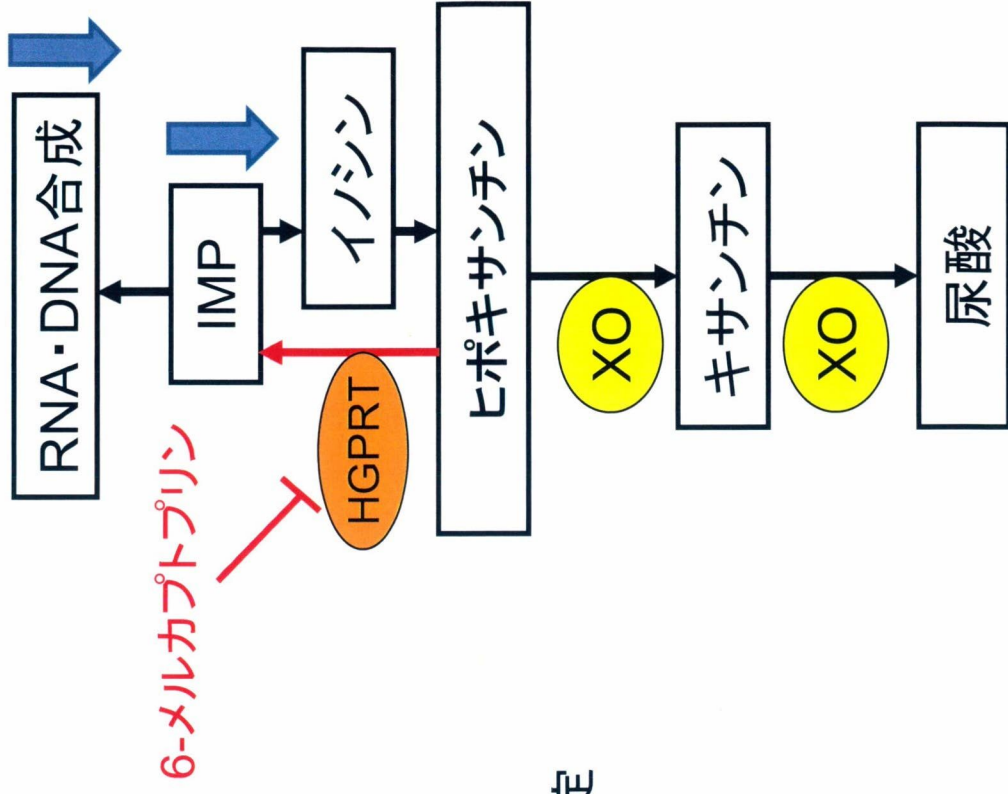
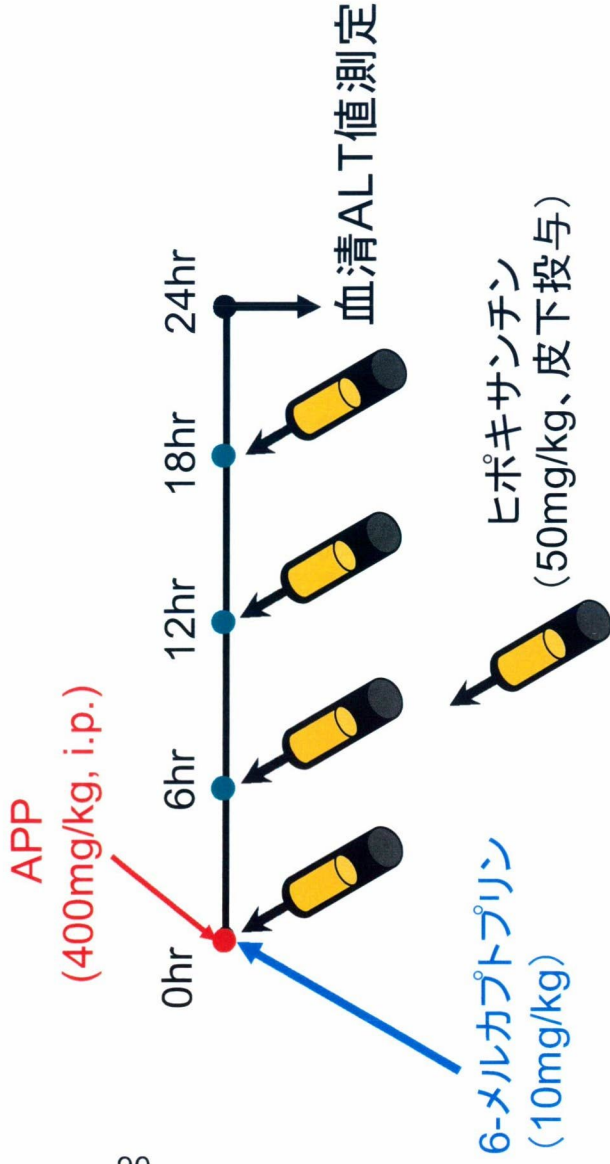
ヒポキサンチンは、APP誘発性DILIモデルラットにおいても、
肝障害改善効果を示した。

ヒポキサンチンによるAPP誘発性DILI改善作用の

メカニズムの検討-①

【実験方法-①】

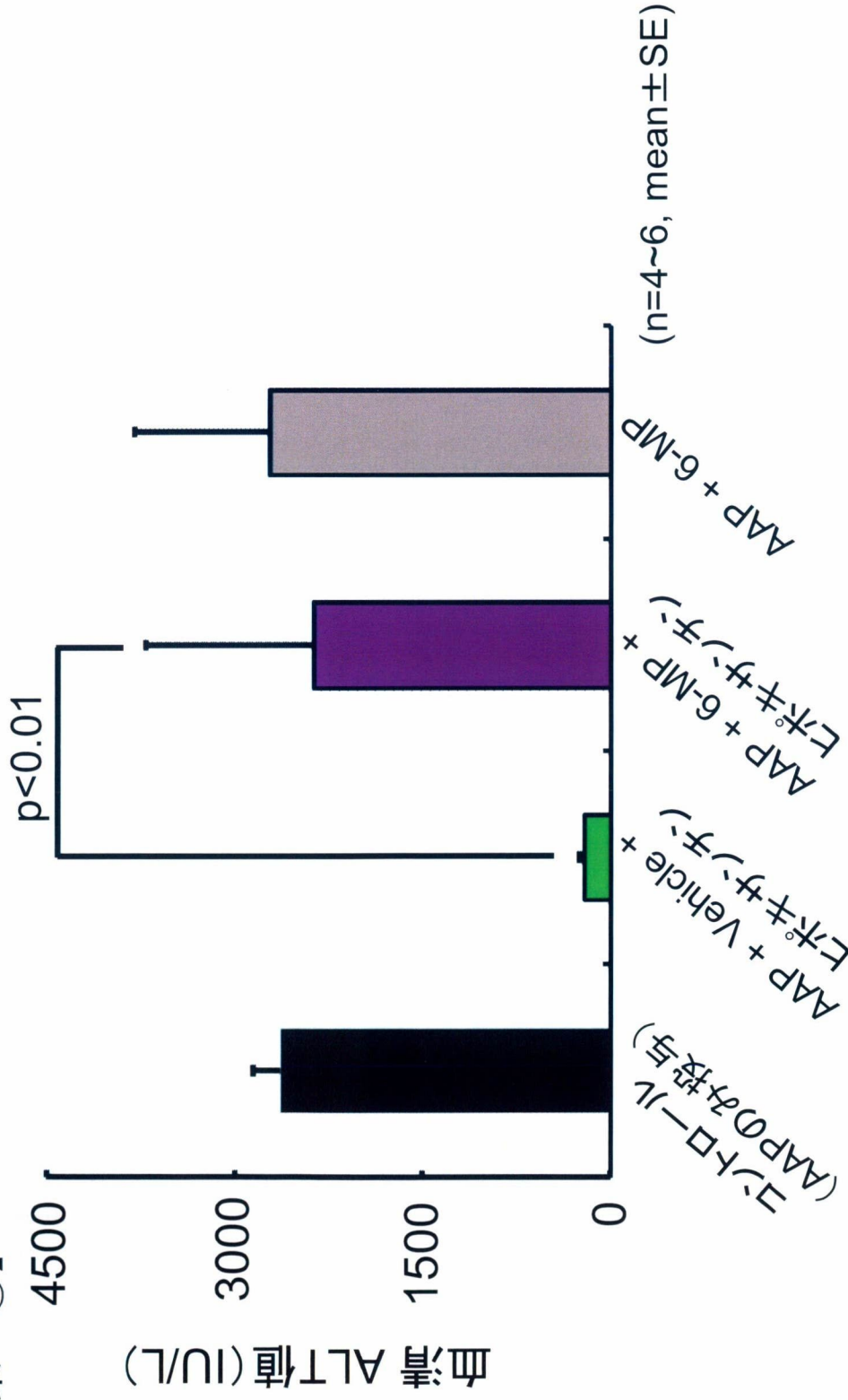
下記のタイムコースに従い、HGPRT阻害剤 6-メルカプトプリン(6-MP)を併用した場合のヒポキサンチンの作用の変化を検討する。



ヒポキサンチンによるAPP誘発性DILI改善作用の

メカニズムの検討-①

【結果-①】



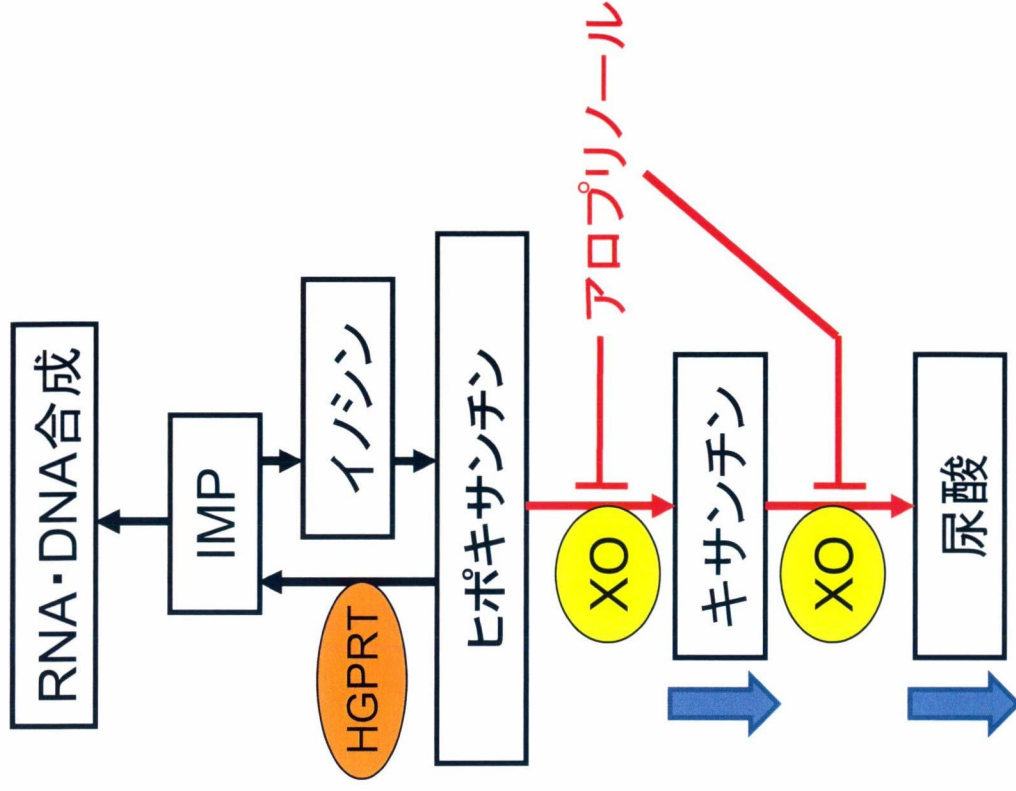
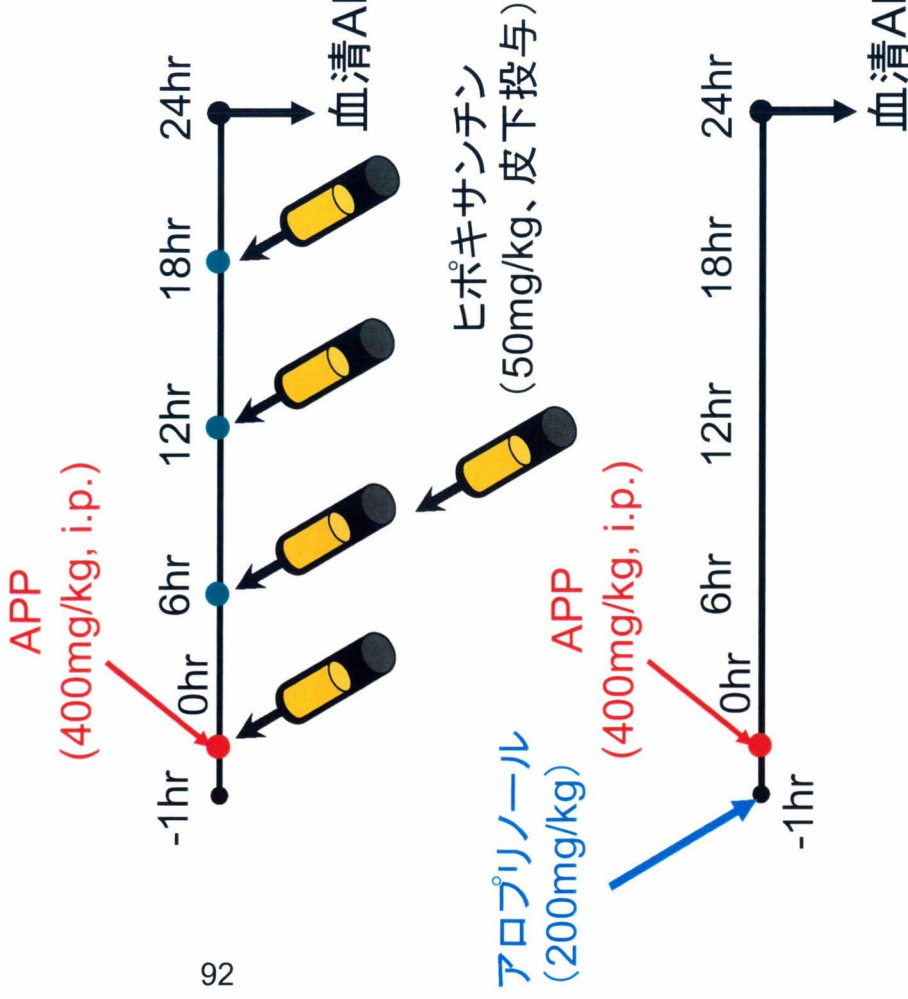
6-MPの併用によりヒポキサンチンのAPP誘発性DILI改善作用はほぼ消失したことから、HGPR1によるヒポキサンチンの代謝が効果発現に必須であると考えられた。

ヒポキサンチンによるAPP誘発性DILI改善作用の

メカニズムの検討-②

【実験方法-②】

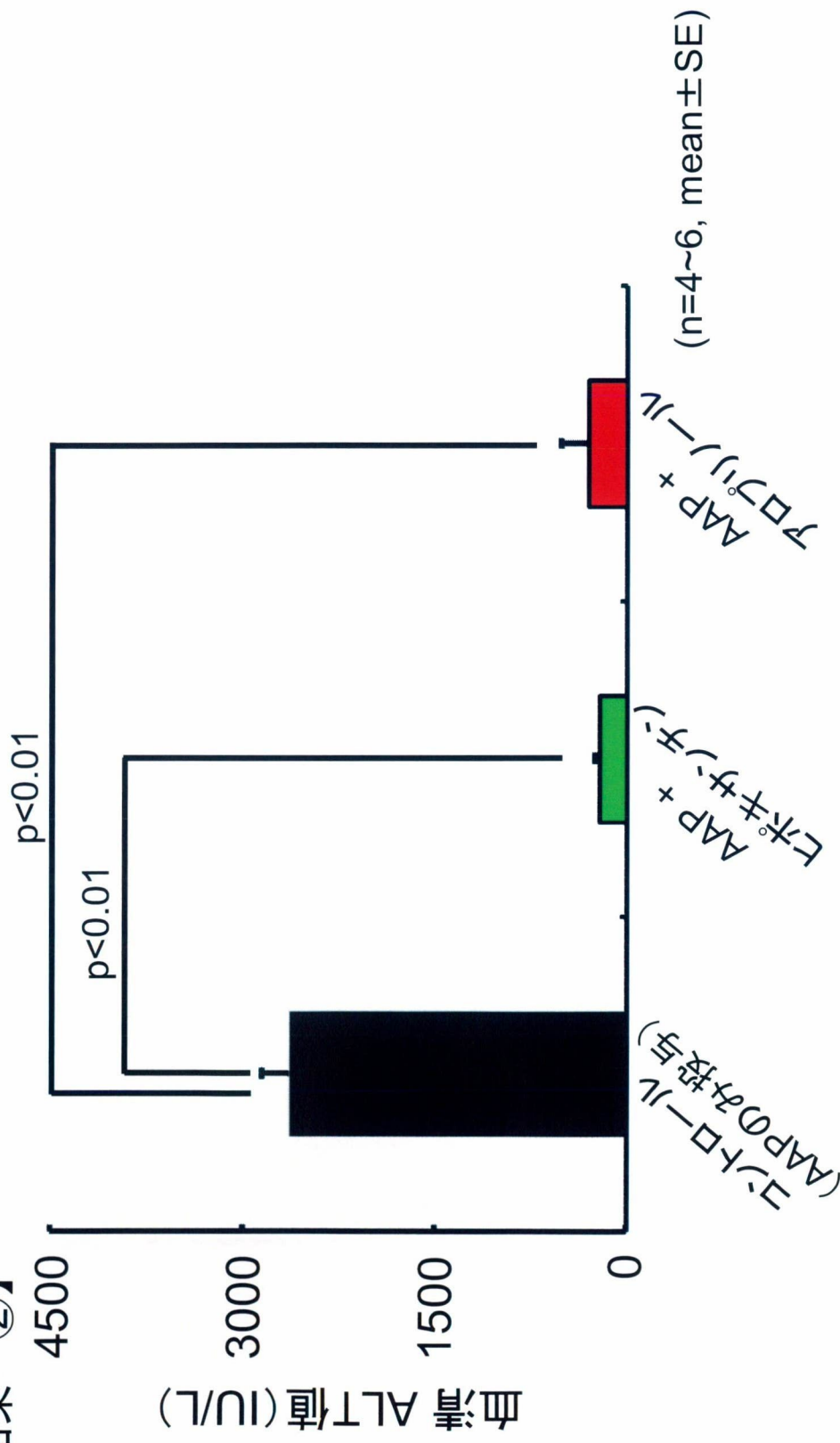
下記のタイムコースに従い、XO阻害剤アロプリノールを用いた場合のAAPによる肝障害の変化を検討する。



ヒポキサンチンによるAAP誘発性DILI改善作用の

メカニズムの検討-②

【結果-②】



アロプリノールはAAP誘発性DILIに対して、ヒポキサンチンと同程度の改善作用を示した。

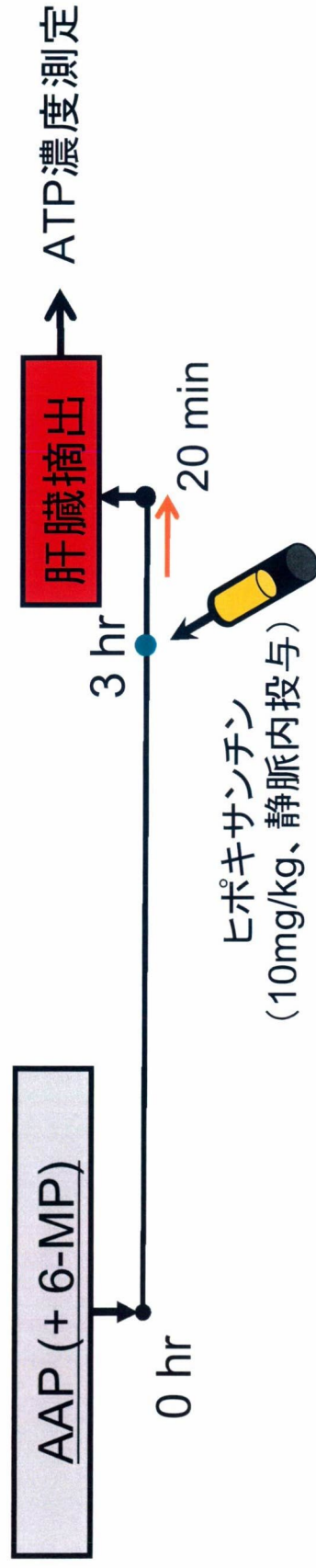
ヒポキサンチン投与時の肝臓内ATP量の変化

【実験目的】

ヒポキサンチンのHGPRトを介した最終代謝産物はATPであることから、ヒポキサンチン投与により肝臓中ATP濃度が上昇するかを確認する。

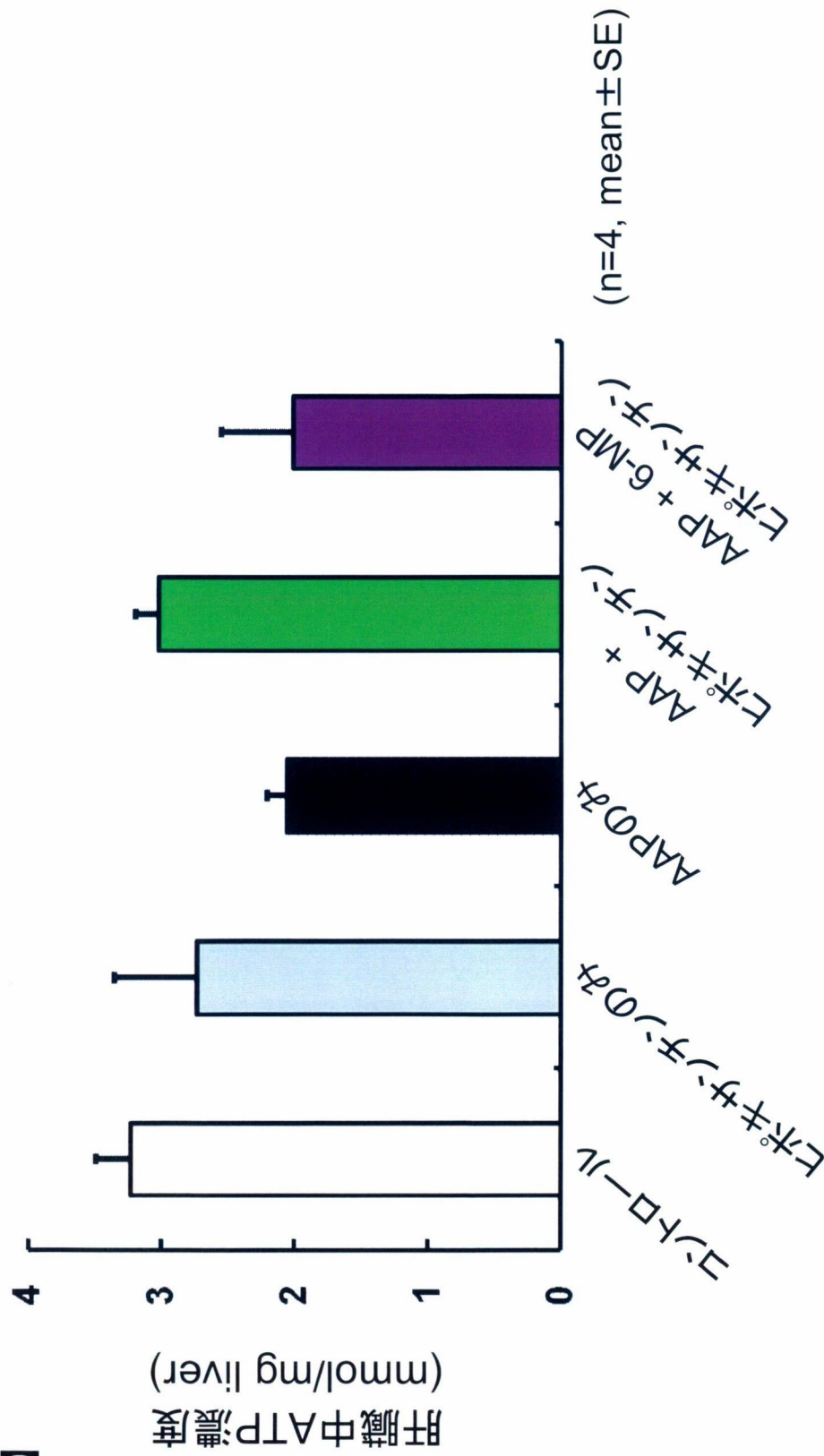
【実験方法】

下記タイムコースに従い、ラットに6-MP (10mg/kg) 併用あるいは非併用下でAPP (400mg/kg) を投与し、3hr後にヒポキサンチン (10mg/kg) を静脈内投与する。ヒポキサンチン投与後20min後に肝臓を摘出し、ATP濃度を測定する。



ヒポキサンチン投与時の肝臓内ATP量の変化

【結果】



DILI発症時には肝臓中ATP濃度は低下しており、ヒポキサンチンは、投与後のHGPRトを介して代謝され、最終的にATP濃度が回復することが示された。

