

30【P1】Ⅲ-145

Caco-2 細胞極性膜における digoxin の透過性を分離評価する試み

○福田 かのこ¹, 清水 理桂子¹, 伊藤 智夫¹(¹北里大薬)

【目的】小腸上皮細胞を介した薬物吸収は apical 膜および basal 膜という性質の異なる 2 つの膜を透過する過程であり、それぞれの膜における透過性を知ることが、薬物の吸収性および薬物間相互作用の解明において重要である。本研究では P-gp の基質である digoxin をモデル薬物として用い、Caco-2 細胞における apical 膜と basal 膜の膜透過性を分離評価することを試みた。

【方法】Caco-2 細胞を Transwell[®] で常法に従って 21-30 日培養し、37°C で [³H]-digoxin の transport 実験を行い、apical 側から basal 側への見かけの透過係数 $P_{app}(a \rightarrow b)$ 、basal 側から apical 側への見かけの透過係数 $P_{app}(b \rightarrow a)$ を求めた。また、細胞内から apical および basal 側への efflux 実験を行い、それぞれの膜を介した排出クリアランス $CL_{eff}(a)$ および $CL_{eff}(b)$ を求めた。

【結果・考察】1 μ M digoxin 単独時の $P_{app}(b \rightarrow a) / P_{app}(a \rightarrow b)$ 比は約 19 であり、阻害剤として 0.1 または 1 mM verapamil 共存下における 1 μ M digoxin の $P_{app}(b \rightarrow a) / P_{app}(a \rightarrow b)$ 比はそれぞれ約 3, 1.2 となった。従って、1 mM verapamil 共存下において Caco-2 細胞の輸送における非対称性はほぼ消失した。Verapamil (>0.3 mM) 共存下で Caco-2 細胞の tight junction への影響が指摘されているため、1 mM verapamil で 2 時間前処理したあと paracellular marker である inulin の透過性を調べたところ、inulin の $P_{app}(a \rightarrow b)$ は verapamil 処理で約 1.3 倍増加した程度であった。一方、1 mM verapamil 共存下における digoxin の $CL_{eff}(a)$ は非共存下に比べて約半分以下とし、Caco-2 細胞から apical 側への排出の約 50% が P-gp を介した排出であると考えられた。