

## 29-0500

Caco-2 細胞に発現するエステラーゼの同定と薬物透過性に及ぼす影響

○今井 輝子<sup>1</sup>, 坂元 久恵<sup>1</sup>, 井本 真澄<sup>2</sup>, 橋本 満<sup>1</sup> (<sup>1</sup>熊本大院薬,<sup>2</sup>九州保福大薬)

【目的】Caco-2 細胞は、プロドラッグをはじめとするエステル含有薬物の吸収評価にも応用されるが、エステル加水分解に関与するカルボキシルエステラーゼ (CES) の発現分子種および薬物透過過程での加水分解の寄与について詳細に検討された例は少ない。そこで今回、Caco-2 細胞に発現する CES 分子種の同定と、継代数・培養日数による Caco-2 細胞の加水分解活性の変化を検討した。さらに、CES の特異的阻害剤を用いて、エステル含有医薬品の膜透過評価系の構築を行った。

【方法】1) 一定期間培養した Caco-2 細胞 S9 の加水分解活性を *p*-Nitrophenylacetate (PNPA) と Temocapril を基質として検討した。2) Caco-2 細胞に CES の特異的阻害剤である Bis-*p*-nitrophenyl phosphate (BNPP) を作用させ、Butyryl-propranolol (BT-PL) の透過過程における加水分解を検討した。3) BNPP のトランスポーターに対する影響を検討するため、Taxol (P-gp)、Gly-Sar (PepT-1)、Mannitol (細胞間隙輸送) の透過性を検討した。【結果および考察】1) Native PAGE および PCR の結果、ヒト小腸 (CES2 が高発現) とは対照的に、Caco-2 細胞には CES1 が高発現し、Caco-2 細胞 S9 における PNPA および Temocapril の Km 値はヒト肝臓と同様の値を示した。2) Caco-2 細胞 S9 の加水分解活性は、30~60 継代において同様の値を示した。一方、培養日数については3週間までは徐々に活性が増大し、4週目で活性は低下した。3) BNPP100~500  $\mu$ M を AP 側に40分間処理した結果、細胞上下間抵抗や細胞膜に影響を与えずに透過中の BT-PL の加水分解を抑制し、阻害率は BNPP200  $\mu$ M 以上で90%に一定した。また、BT-PL の透過係数 (Papp) は BNPP 非存在下の約3倍に増大した。4) Taxol、Gly-Sar および Mannitol の Papp は BNPP によって影響されなかった。