

31P1-pm120

ヒトカルボキシエステラーゼを発現しない Caco-2 細胞クローンの作製と評価
○今井 輝子¹, 井本 真澄², 綱脇 智織¹, 迫 沙央理¹, 大浦 華代子¹(¹熊本大院薬,²第一薬大)

【目的】経口投与プロドラッグの開発において、高いバイオアベイラビリティを達成するには、小腸から安定にプロドラッグとして吸収されることが望ましい。小腸に存在する加水分解酵素の中で、発現量の最も多い酵素はカルボキシエステラーゼ(CES)であるが、吸収性の予測に繁用される Caco-2 細胞には、ヒト小腸 CES(hCE2)とは異なる分子種(hCE1)が発現する。hCE1 は hCE2 に比べて基質認識性が広く、多種多様な化合物を基質とする。したがって、ヒト小腸では加水分解されないプロドラッグも Caco-2 細胞では加水分解されてしまい、正確な吸収性を評価することができない。これまでに我々は、Caco-2 細胞のクローン化に取り組み、hCE1 発現が極めて低いクローン細胞について報告した。しかしながら、その細胞は細胞間接着が悪く、透過性評価に不向きな細胞であった。今回、新たなクローン細胞として、CES がほとんど発現せず、接着性に優れた細胞を作成するに至ったので、細胞特性および輸送活性について報告する。

【実験】限界希釈法でクローン細胞を作成し、酵素活性測定、透過実験を行った。

【結果・考察】Native-PAGE、RT-PCR 及び酵素活性から、今回樹立したサブクローンには、hCE1 および hCE2 が発現しないことが明らかとなった。さらに、いずれの発現も 5-aza-cytidine 処理の効果は認められなかった。透過実験の結果、Mannitol および Propranolol の透過は親細胞と同等であった。また、トランスポーターを介した輸送活性として、Glucose、Gly-Sar、Taxol、Estrone-3-sulfate を用いて検討した結果、親細胞と同等であることが示された。今回、作成した Caco-2 クローン細胞は、膜透過性について親細胞と同等の評価することができ、プロドラッグの小腸吸収の予測において、極めて有用な細胞と考えられる。