

30pmL-005

プロドラッグの小腸吸収予測のための in vitro 評価法の確立：カルボキシルエステラーゼ 1 低発現 Caco-2 サブクローンの細胞特性について

迫 沙央理¹, 黒川 敬介¹, ○大浦 華代子¹, 安達 弥永², 二宮 真一²,
今井 輝子¹(¹熊本大薬, ²積水メディカル薬物動態研)

【目的】吸収改善を目的としたプロドラッグは、小腸で加水分解されずにプロドラッグとして吸収されることが望ましい。小腸で安定なプロドラッグは肝臓カルボキシルエステラーゼ 1 (CES1、hCE1) の基質になるものが多いが、小腸吸収予測に汎用される Caco-2 細胞は hCE1 を高発現するため、小腸とは異なる吸収動態を示す。そこで我々は、限界希釈法により hCE1 の発現が低い 2 つの Caco-2 サブクローン (SC#45、#78) を見出した。今回、プロドラッグの吸収性評価に適する細胞株として、サブクローンの加水分解特性、単層膜形成、膜輸送活性を検討した。

【方法】加水分解特性はホモジネート 9000g 上清 (S9) 分画における hCE1 基質 (Temo capril, Oseltamivir) の加水分解により評価した。DNA メチル化阻害剤 5-Azacytidine (5-AC) により hCE1 低発現について解析した。単層膜形成は膜抵抗 (TEER) 値、Mannitol 透過性、Tight junction (TJ) 構成タンパク質発現により評価した。膜輸送活性は Propranolol、Taxol、Gly-Sar、Estrone-3-sulfate 透過性により評価した。

【結果・考察】1) SC#45 および #78 の hCE1 基質に対する S9 活性は親細胞の約 1/15-1/20 と低かった。5-AC 処理では、SC#45、#78 の hCE1 低発現に DNA メチル化は関与しないことが示された。2) SC#45 の TEER は親細胞の 1/4 と低く、Mannitol 透過性は 37 倍高かった。一方、SC#78 は培養 4 週間で親細胞と同等の単層膜形成能を示した。SC#45 の透過性亢進は TJ タンパク質のクローディンやアクチンの低発現が要因と示唆された。3) SC#78 の MDR1、MRP2、PEPT1、OATP-B 等の薬物トランスポーター発現は親細胞と同程度であり、細胞単層膜での受動拡散、種々のトランスポーターを介した輸送も親細胞と同等であった。SC#78 は、hCE1 の発現が極めて低く、親細胞と同等の細胞特性を有することが明らかとなった。