

単層培養した Caco-2 細胞における P-糖タンパク質関与の輸送に及ぼすベンゾ [e] ピレンとベンゾ [a] ピレンの影響 : 比較試験

杉原成美、戸山久美子、岡本達明、門脇正明、寺尾和美、古野浩二

Toxicology in Vitro, **21**, 827-834 (2007)

Effects of benzo(e)pyrene and benzo(a)pyrene on P-glycoprotein-mediated transport in Caco-2 cell monolayer: a comparative approach

Narumi Sugihara, Kumiko Toyama, Tatsuaki Okamoto, Masaaki Kadowaki, Kazumi Terao and Koji Furuno

ABSTRACT: The previous studies from our laboratory reported that benzo(a)pyrene (Bap) influenced efflux transport of rhodamine 123 (Rho-123) by induction of P-glycoprotein (P-gp) in Caco-2 cells. The present study investigated whether induction of P-gp and the enhanced efflux transport of Rho-123 were caused by benzo(e)pyrene (Bep), which has a structure similar to Bap, but is not a carcinogenic compound. In Caco-2 monolayer exposed to 50 μ M Bep for 72 hrs, the ratio of the apparent permeability coefficient (P_{app}) of Rho-123 efflux increased significantly compared to that of the control monolayer. Similarly, a significant increase in expression of MDR1 mRNA and of P-gp at the protein level were detected by RT-PCR and by Western blot analysis, respectively, in Caco-2 cells exposed to Bep, compared to that of the control. Caco-2 cells exposed to Bep showed oxidative stress that was detected by fluorescence microscopy using aminophenyl fluorescein. However, the oxidative stress was weaker compared with that of Bap. The cellular GSH content was decreased to 80 % or 59 % of control cells, respectively, in Caco-2 cells exposed to either Bep or Bap. Our results further show that Bep or Bap-induced P-gp in Caco-2 cells might have been the result of oxidative stress rather than DNA damage.

抄録 当研究室ではこれまでに、ベンゾ [a] ピレン (Bap) を暴露した Caco-2 細胞において、P-糖タンパク質が発現誘導され Rhodamine-123(Rho-123) の細胞外への排出が影響を受けることを報告している。今回の研究では、Bap と構造の類似性はあるが、発がん作用のないベンゾ [e] ピレン (Bep) における、Rho-123 の細胞外排出の促進作用について調べた。

Bep50 μ M を 72 時間暴露させた単層培養の Caco-2 細胞において、Rho-123 の排出方向の P_{app} はコントロール培養単層細胞に比べて有意に増加した。同時に、MDR1 の mRNA の発現やタンパク質レベルでの P-糖タンパク質の増大が、RT-PCR や Western

blot 解析により検出された。Bep に暴露させた Caco-2 細胞は、aminophenyl fluorescein を用いた蛍光顕微鏡観察により酸化ストレスが確認された。しかし、その酸化ストレスは Bap に比べて弱かった。細胞内の GSH 量は、Bep あるいは Bap に暴露させた細胞において、それぞれコントロール細胞の 80% あるいは 59% に減少していた。これらの結果から、Caco-2 細胞における Bep あるいは Bap 暴露による P-糖タンパク質の誘導は、DNA 損傷ではなく、酸化ストレスが関与している可能性が示唆された。