

Caco-2 細胞内で生成された
N-Acetyl 5-Aminosalicylic Acid の排出に及ぼす
フラボノイドの阻害効果

吉村 真、河野健太郎、松村隆介、杉原成美、古野浩二

Journal of Biomedicine and Biotechnology,
2009, Article ID 467489, 8 page (2009)

**Inhibitory Effect of Flavonoids
on the Efflux of *N*-Acetyl 5-Aminosalicylic Acid Intracellularly Formed
in Caco-2 Cells**

Shin Yoshimura, Kentaro Kawano, Ryusuke Matsumura,
Narumi Sugihara, and Koji Furuno

ABSTRACT: *N*-acetyl 5-aminosalicylic acid (5-AcASA) that was intracellularly formed from 5-aminosalicylic acid (5-ASA) at 200 μ M was discharged 5.3, 7.1, and 8.1-fold higher into the apical site than into the basolateral site during 1, 2, and 4-hour incubations, respectively, in Caco-2 cells grown in Transwells. The addition of flavonols (100 μ M) such as fisetin and quercetin with 5-ASA remarkably decreased the apically directed efflux of 5-AcASA. When 5-ASA (200 μ M) was added to Caco-2 cells grown in tissue culture dishes, the formation of 5-AcASA decreased, and, in addition, the formed 5-AcASA was found to be accumulated within the cells in the presence of such flavonols. Thus, the decrease in 5-AcASA efflux by such flavonols was attributed not only to the inhibition of *N*-acetyl-conjugation of 5-ASA but to the predominant cellular accumulation of 5-AcASA. Various flavonoids also had both of the effects with potencies that depend on their specific structures. The essential structure of flavonoids was an absence of a hydroxyl substitution at the C5 position on the A-ring of flavone structure for the inhibitory effect on the *N*-acetyl-conjugation of 5-ASA, and a presence of hydroxyl substitutions at the C3' or C4' position on the B-ring of flavone structure for the promoting effect on the cellular accumulation of 5-AcASA. Both the decrease in 5-AcASA apical efflux and the increase in 5-AcASA cellular accumulation were also caused by MK571 and indomethacin, inhibitors of MRPs, but not by quinidine, cyclosporin A, P-glycoprotein inhibitors, and mitoxantrone, a BCRP substrate. These results suggest that certain flavonoids suppress the apical efflux of 5-AcASA possibly by inhibiting MRPs pumps located on apical membranes in Caco-2 cells.

抄録 5-アミノサリチル酸 (5-ASA) 200 μ M 由来の細胞内で生成した *N*-アセチル 5-アミノサリチル酸 (5-AcASA) は、インキュベーション 1、2 および 4 時間後において、Transwells 中に培養した Caco-2 細胞の basolateral 側に比べ、apical 側に、5.3、7.1、8.1 倍より多く排出された。5-ASA と共にフィセチンあるいはケルセチン 100 μ M を添加すると、5-AcASA の apical 側への排出は著しく減少した。また、これらフラボノールの存在下、ディッシュ中に培養した Caco-2 細胞に 5-ASA 200 μ M を添加すると、5-AcASA 生成量の減少に加えて、生成した 5-AcASA の細胞内蓄積量の増大が観察された。従って、これらフラボノールによる 5-AcASA の排出量の減少には、5-ASA の *N*-アセチル化の抑制だけでなく 5-AcASA の細胞蓄積増大作用も大きく関与していることが示された。他のフラボノイドにおいても、*N*-アセチル化の抑制と 5-AcASA の細胞蓄積増大作用が観察された。フラボノイドの構造的必須条件は、5-ASA の *N*-アセチル化抑制作用では、フラボン構造の A-リングの C5 位に水酸基を持たないことであり、5-AcASA の細胞内蓄積増大作用に関しては、フラボン構造の B-リングの C3' または C4' 位の水酸基の存在であった。5-AcASA の apical 側への排出減少と 5-AcASA の細胞蓄積量の増大は、P 糖タンパク質阻害剤であるキニジン、シクロスポリン A および BCRP の基質であるミトキサントロンでは認められず、MRPs の抑制剤である MK571 とインドメタシンによって引き起こされた。これらの結果から、フラボノイドは、Caco-2 細胞の apical 側に存在している MRPs 輸送たんぱく質の阻害により 5-AcASA の apical 側への排出を抑制していることが示唆された。