

Caco-2細胞における P-糖タンパク質による輸送に及ぼすベンゾ[a]ピレンの影響

杉原成美、戸山久美子、道原明宏、赤崎健司、辻 宏、古野浩二

Toxicology, **223**, 156-165 (2006)

Effect of benzo[a]pyrene on P-glycoprotein-mediated transport in Caco-2 cell monolayer

Narumi Sugihara, Kumiko Toyama, Michihara Akihiro, Akasaki Kenji,
Hiroshi Tsuji, Koji Furuno

ABSTRACT : The main exposure pathway of benzo[a]pyrene(Bap) for humans is considered to be via the daily diet. The purpose of this study was to investigate the effect of BaP on the intestinal transport of chemicals mediated by P-glycoprotein(P-gp). The intestinal epithelial membrane transport of Rhodamine-123(Rho-123), a substrate of P-gp, was examined using a monolayer of the human Caco-2 cell line grown in Transwells. In the monolayer exposed to Bap for 72 hours before transport experiments, the ratio of the apparent permeability coefficients (P_{app}) of Rho-123 efflux increased compared to that of the control. The permeability of Rhodamine B (Rho-B), not a substrate of P-gp, showed no difference between the monolayers. Treatment with quinidine or cyclosporine A, which are P-gp inhibitors, decreased the P_{app} of Rho-123 to the same degree in both monolayers. The transport of Rho-123 wasn't influenced by the presence of Bap. Thus, Bap seemed not to act directly on the efflux activity of P-gp and be a binding site competitor of Rho-123. In the Caco-2 cells that enhanced the efflux of Rho-123 by the treatment with Bap, an increase in mRNA expression of MDR 1 (P-gp) was confirmed compared to that of control by RT-PCR. Furthermore, Western blot analysis using a monoclonal antibody, C219, demonstrated the increase of P-gp in Caco-2 cells exposed to Bap, compared with controls. It was inferred that Bap exposure induced the expression of P-gp which led to the observed increase in efflux transport of Rho-123. The possibility was suggested that Bap might affect the disposition of medicines by increasing P-gp expression.

抄録 ベンゾ[a]ピレンのヒトへの暴露は、主に食物を通じて行なわれる。今回の研究は、消化管におけるP-糖タンパク質関与の輸送に及ぼすベンゾ[a]ピレンの影響について検討を行った。Transwell上に単層培養したCaco-2細胞を用いて、P-糖タンパク質の基質であるRhodamine-123の透過実験を行なった。ベンゾ[a]ピレンで単層培養した細胞を72時間処理し透過実験を行なったところ、Rhodamine-123の透過係数(P_{app})は、control細胞に比べ

増大した。P-糖タンパク質の基質でないRhodamine B (Rho-B)について同様の実験を行なったところ、ベンゾ[a]ピレン処理の影響は観察されなかった。P-糖タンパク質の阻害剤である quinidine や cyclosporine A は、ベンゾ[a]ピレン処理細胞と control 細胞の Rhodamine-123 の透過係数(P_{app})を同程度にまで低下させた。ベンゾ[a]ピレン共存下において Rhodamine-123 の透過はベンゾ[a]ピレンによる影響を受けなかった。従って、ベンゾ[a]ピレンは、P-糖タンパク質輸送活性を直接的に、また Rhodamine-123 の透過と競合して影響しているのではないことが示された。ベンゾ[a]ピレン処理した Caco-2 細胞において、MDR 1(P-糖タンパク質)の mRNA 発現が増大していることが RT-PCR により判明した。さらに、P-糖タンパク質のモノクローナル抗体である C219 による Western blot 解析により、ベンゾ[a]ピレン処理によってP-糖タンパク質が増大することが確認された。従って、ベンゾ[a]ピレン処理した細胞における Rhodamine-123 の細胞外への排出の増大には、P-糖タンパク質の発現の増大が関与していることが示唆された。