

# ペプチドトランスポータによる経上皮輸送制御とシミュレーション

京都大学医学部附属病院薬剤部

乾 賢一

## 1. はじめに

薬物の経口投与はもっとも簡便な服薬方法として繁用されており、薬物療法の中で重要な位置を占めている。一般に、経口投与された薬物の吸収は、pH 分配仮説に従う受動拡散によって説明される場合が多いが、pH 分配仮説に従わない薬物も存在する。例えば、経口用β-ラクタム抗生物質は、低脂溶性であり生理的 pH においてイオン化しているにも拘わらず、良好な腸管吸収を示すことが知られている。これは、ジペプチドやトリペプチド（小分子ペプチド）の輸送を担っているペプチドトランスポータが、経口用β-ラクタム抗生物質を認識し吸収を媒介しているためと考えられている。この様にトランスポータが、薬物の腸管吸収に関与している例は近年数多く報告されるようになってきたが、経上皮的なベクトル輸送すなわち吸収が、薬物トランスポータネットワークによって如何に制御されているかについてはほとんど解析されていない。この一つの要因として、側底膜に発現するトランスポータの排出方向の輸送解析が困難であることが挙げられる。本フォーラムでは、ペプチドトランスポータを介した経上皮輸送機構とそのシミュレーションについて、我々の研究を中心に紹介する。

## 2. PEPT1 と側底膜型ペプチドトランスポータの機能特性

薬物の腸管吸収は経上皮細胞的な輸送過程であり、刷子縁膜並びに側底膜という 2 つの異なる膜輸送によって制御されている。小腸上皮細胞の刷子縁膜に発現するペプチドトランスポータ (PEPT1) は、 $H^+$  勾配を駆動力として小分子ペプチドや種々ペプチド類似薬物の細胞内取り込みを媒介している (図 1)<sup>1)</sup>。一方、PEPT1 によって輸送される薬物の物理化学的性質を考慮すると側底膜にもトランスポータの存在を想定しなければ、ペプチド類似薬物の腸管吸収を説明することはできない。この様な観点から、ヒト培養腸上皮細胞 Caco-2 を用いてジペプチドやペプチド類似薬物の経上皮輸送を解析し、側底膜にも PEPT1 とは異なるペプチドトランスポータが発現していることを明らかにしてきた (図 1)<sup>2-6)</sup>。表 1 に PEPT1 と側底膜型ペプチドトランスポータ

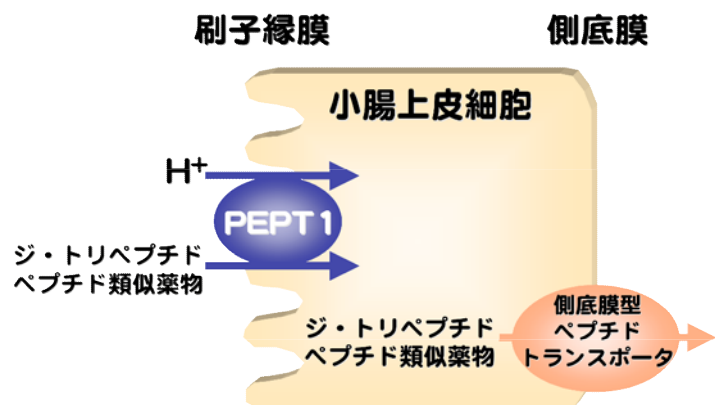


図 1. 小腸上皮細胞における小分子ペプチド・ペプチド類似薬物の経細胞輸送機構

の機能特性の比較について示す。しかしここに示した側底膜型ペプチドトランスポータの特性は、生理的な輸送の方向とは逆の方向、すなわち細胞外からの取り込み実験の結果に基づいているため、側底膜型ペプチドトランスポータの取り込み特性と排出特性が一致しているのかといった問題点が残されている。

表 1. PEPT1 と側底膜型ペプチドトランスポータの機能特性の比較

	PEPT1		側底膜型ペプチド トランスポータ
輸送形式	能動輸送		促進拡散
pH依存性	あり		なし
基質認識特性		ほぼ類似 (例外：セフチブテンなど)	
基質親和性	高い	>	低い
Gly-SarのKm値	0.65 mM		2.1 mM

### 3. 側底膜型ペプチドトランスポータの排出特性

上述の問題点を解決するため、ペプチドトランスポータの典型的基質である glycylsarcosine (Gly-Sar) を用いて、排出実験並びに速度論的解析を行った。Gly-Sar 排出に及ぼす細胞外 pH の影響について調べたところ、取り込み方向と同様に pH 依存性はほとんど認められなかった。また速度論的解析では、Caco-2 細胞を頂側膜側 ( $X_1$ )、細胞内 ( $X_2$ )、側底膜側 ( $X_3$ ) からなる 3 つのコンパートメントモデル (図 2) とし、拡張最小二乗法プログラム NONMEM を用いて、両トランスポータの取り込み及び排出方向のクリアランス (CL) を算出した。

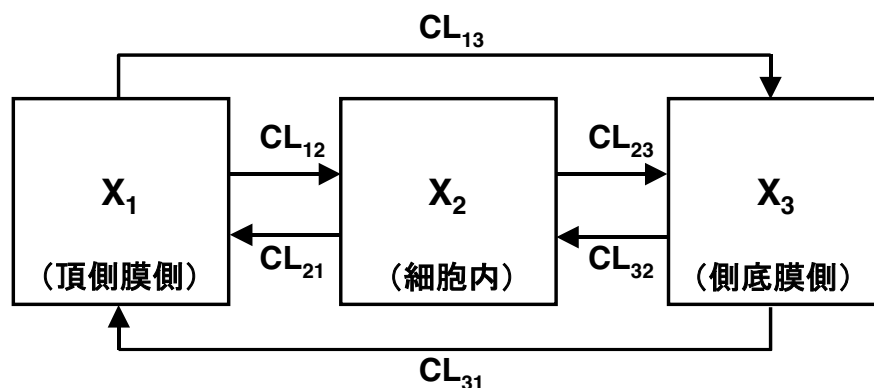


図 2. 3-コンパートメントモデルの模式図

同様の解析を種々の Gly-Sar 濃度において行い、CL と Gly-Sar 濃度の関係を求め、PEPT1 並びに側底膜型ペプチドトランスポータの両方向における速度論パラメータ ( $K_m$ ,  $V_{max}$  値)

を算出した。その結果、両トランスポータを介した取り込み方向の  $K_m$  値や  $V_{max}$  値は、これまで取り込み実験から得られた値とよく一致していた。さらに、側底膜型ペプチドトランスポータの特性については、排出方向が取り込み方向に比べ低親和性であることが明らかになった。また経口用 $\beta$ -ラクタム抗生物質のうち、cyclacillin は側底膜型ペプチドトランスポータに高い親和性を示すこと、一方 ceftibuten は低い親和性を示すことが取り込み実験により明らかにされていたが、速度論的解析より、排出方向に関しても同様の結果が得られた。従って、側底膜型ペプチドトランスポータの排出方向の機能特性は、基質親和性が異なるものの、取り込み方向の機能特性と類似していることが判明した<sup>7)</sup>。

#### 4. ペプチドトランスポータを介した経細胞輸送のシミュレーション

上皮細胞の機能は種々の相互作用から構成される“複雑系”であり、上述したように PEPT1 や側底膜型ペプチドトランスポータ個々の機能が解明されても、システムとしてのトランスポータネットワークを解明することは困難である。実際ペプチドトランスポータは、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger (NHE3) や  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase と機能的に関連していると考えられる。そこで、ペプチドトランスポータと関連機能要素を組み込んだ経上皮輸送シミュレータの開発を目指して、まず PEPT1 と側底膜型ペプチドトランスポータからなる単純な経上皮輸送モデルを構築した。このモデルでは、非定常状態における Gly-Sar の輸送をシミュレートするため、コンパートメントの Gly-Sar 濃度変化に伴って、各膜輸送過程の rate constant が変化するようにプログラムを作成した。その結果、非定常状態における Gly-Sar の輸送をほぼ予測できることがわかった。

#### 5. おわりに

今回作成したペプチドトランスポータのシミュレータをさらに発展させることによって、細胞外 pH などの環境因子が変化した場合や、病態時などのトランスポータ発現量変動時における輸送機能変化を *in silico* で予測することが可能になると予想される。さらに、より複雑な薬物トランスポータネットワークを形成している腎排泄過程においても、本アプローチを応用することによって、各トランスポータの寄与の評価など、従来の実験手法では困難な解析が可能になると期待される。

#### 6. 参考文献

(1) Terada T and Inui K: *Curr. Drug Metab.*, 5, 85-94 (2004) (2) Inui K et al.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 298, 711-717 (1992) (3) Saito H and Inui K: *Am. J. Physiol.*, 265, G289-G294 (1993) (4) Matsumoto S et al.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 270, 498-504 (1995) (5) Terada T et al.: *Am. J. Physiol.*, 276, G1435-G1441 (1999) (6) Irie M et al.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 298, 711-717 (2001) (7) Irie M et al.: submitted.