

ルテインの科学的特性を利用した薬剤性肺障害予防法の確立

北海道大学大学院薬学研究院・助教 板垣 史郎

■ 目的

前年度、申請者らはルテインが複数の抗酸化作用を有すること、ルテインの消化管吸収に Neimann-Pick type C1 like 1 (NPC1L1) が寄与していること、ラットにルテインを長期間投与するとルテインは肺に著しく蓄積することなど、いくつかの重要な知見を得ることに成功した。

薬剤性肺障害は、わが国で発症頻度が高く、かつ予後不良タイプの多い薬剤性副作用である。薬剤性肺障害の発症にはアポトーシスの関与が示唆されている。本研究では、酸化障害がアポトーシス惹起の原因の一つであることを踏まえ、ルテインの科学的特性を利用した薬剤性肺障害予防法の確立を目標とし、そのために必要な基礎的知見を集積することを目的とした。

■ 方法

ルテイン (0.5mg/kg) 長期投与実験には Wistar 系雄性ラットを用いた。投与期間は、2 週間および 4 週間とし、実験終了時の週齢を 10 週齢に統一した。トランスポータ発現を real-Time PCR により定量した。*in vitro* 取り込み実験はヒト肺胞上皮癌由来 A549 細胞およびヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞を用いて行った。細胞に取り込まれたルテインを HPLC にて定量した。さらにラット肺を用いて、*in vitro* 肺胞上皮モデルの構築を行った。

■ 結果および考察

まず、ルテイン肺送達機構の解明に取り組んだ。近年、ラットにトランスポータ基質を長期服用させることで、トランスポータの発現が上昇する例がいくつか報告されている。肺に存在し、かつ、ルテインを認識する可能性の高いトランスポータについて、ルテイン長期投与時の発現変動を検討した。しかしながら、ルテインの長期投与はそれらの発現に影響を与えなかった。次いで、ヒト肺胞上皮癌由来の培養細胞である A549 細胞を用いた取り込み実験を行った。Scavenger receptor class B type I (SR-BI) の阻害剤である BLT-1, ATP-binding cassette transporters (ABC) A1 の阻害剤である glyburide は A549 細胞へのルテインの取り込みに影響を与えなかった。

化合物の吸収性はその生体内活性に大きく影響する。この観点から、ルテインの吸収性の向上を目指して、ルテインの吸収機構の解明に取り組んだ。SR-BI は肺のほか、小腸においても発現が認められた。BLT-1 が Caco-2 細胞へのルテインの取り込みを阻害したことから、Caco-2 細胞におけるルテインの取り込みに対する SR-BI の関与が明らかとなった。一般に、脂溶性の高い化合物は胆汁酸などによりミセル化された後で吸収される。また、ミセルの粒子径は生体内物質である胆汁酸により影響を受ける。そこで、胆汁酸の併用により、ルテインの消化管吸収が改善されるか否かについて検討を行った。Caco-2 細胞へのルテインの取り込みはタウロコール酸の共存により、有意に促進された。

ルテインの肺送達に SR-BI が関与していることを示唆する知見が得られなかった原因として、肺胞上皮由来の培養細胞では肺胞気腔側と肺毛細血管側を区別した評価が難しいという、培養細胞のモデルとしての限界が考えられた。肺胞上皮組織に関するより詳細な輸送機能解析を行うため、正常肺胞上皮細胞を単離して、生体内の機能をより正確に反映した *in vitro* 評価系の構築に取り組んだ。形態観察、マーカー分子の発現などの検討から、II 型細胞の単離およびそれに続く I 型細胞への分化は概ね良好に行われたと考えられた。

■ 結語

本課題では、SR-BI がルテインの Caco-2 細胞への取り込みに関与していること、Caco-2 細胞へのルテインの取り込みがタウロコール酸によって促進されることを明らかにした。一方、ルテインの肺移行性については種々検討を行ったものの、その機構を明らかにするには至らなかった。