血液脳関門・血液脳脊髄液関門における薬物排出輸送系の解析

鈴木 洋史

Analysis of Drug Efflux Systems in the Blood-brain and Blood-cerebrospinal Fluid Barriers

Hiroshi SUZUKI

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, Tokyo

Summary: It has been reported that some transporters are located on the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers to exclude their substrates from the central nervous system. In this article, the molecular mechanism for the vectorial transport of xenobiotics is summarized particularly focusing on our own studies. In addition to MDR1 P-glycoprotein, we could suggest the significant role of multidrug resistance associated proteins in the drug disposition in the central nervous system. Moreover, the role of organic anion transporting polypeptides and organic anion transporters is discussed in relation to the transport studies in the blood-cerebrospinal fluid barrier.

Key words: Blood-brain barrier, Choroid plexus, ATP-binding cassette transporters, MDR1 P-glycoprotein, Multidrug resistance associated protein, Organic anion transporting polypeptide, Organic anion transporter

1. はじめに

中枢神経系は血液脳関門および血液脳脊髄液関門という2種の関門により循環血と隔てられている。このうち血液脳関門は、脳毛細血管内皮細胞間が密着結合により結合されることにより形成される¹⁻³⁾。さらに他の抹消組織とは異なり、脳毛細血管内皮細胞には fenestra, pinocytotic vesicle などがほとんど観察されないなどの特徴を有するため、循環血中の化合物が脳実質内に移行するためには経細胞輸送を経なければならない¹⁻³⁾。一般に、単純拡散による膜透過能力は脂溶性/(分子量)^{1/2}に比例することが知られているが、実際に多くの非電解質を用いた検討により、血液脳関門透過性とこの物性の間には良好な関係が報告されている¹⁻³⁾。一方、グルコースなど水溶性の高い生体内因性物質に対しては脳毛細血管内皮細胞上に特異的な輸送担体が発現され、循環血

から脳への移行が促進されている¹⁻³⁾。それに対しピンカアルカロイドなどに対しては、血液脳関門透過性はその物性から予測される値よりも低く、何らかの移行防御機構の存在が示唆されてきた⁴⁻⁶⁾。後述するように、多剤耐性腫瘍細胞膜上に発現される薬物排出輸送担体MDR1が脳毛細血管内皮細胞上に局在し、基質の脳移行を妨げることが明らかとされたが⁴⁻⁶⁾、必ずしもMDR1のみによっては説明できない排出輸送系の存在も示唆されている。

一方、血液脳脊髄液関門は、脈絡叢上皮細胞間が密着結合により結合されることにより形成される¹⁻³⁾。脈絡叢上皮細胞の血管側膜および脳脊髄液側膜上には種々無機イオンに対する輸送担体が発現され、脳脊髄液を産生する機能が備えられているとともに、有機アニオン系化合物、有機カチオン系化合物を中枢から循環血へと能動的に排出する機能をも有していることが示唆されてき

—すずき ひろし—

鈴木洋史：1984年東京大学薬学部卒，1986年東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了後，1989年より東京大学薬学部教務職員，1990年より同助手となる．1993年から1995年まで，米国ニューヨーク大学医療センター病理学部門，Daniel Meruelo教授のもとでポストドクとして勤務．帰国後1996年より東京大学薬学部助教授，改組により1997年より東京大学大学院薬学系研究科助教授となり，現在に至る．

た¹⁻³⁾。

これらの背景のもと、本項では血液脳関門、血液脳脊髄液関門における薬物排出輸送系に関する最近の知見について特に著者らの研究結果を中心に紹介する。なお、本稿では著者の研究内容の総括が要求されているため、すでに著したいくつかの総説⁷⁻¹¹⁾と内容が重複することをあらかじめお断りしておく。

2. 血液脳関門における MDR1 の機能

上述のように、一部の化合物においては、その血液脳関門透過性は物性から予想されるよりも遥かに低い値しか示さない⁴⁻⁶⁾。ノックアウトマウスを用いることにより、この原因として MDR1 P-糖蛋白の関与が示された⁴⁻⁶⁾が、ここでは著者らによる結果を示しながらこの点について述べたい。著者らはキニジンをノックアウトマウスおよび正常マウスに静脈内投与し、その脳内移行性について検討を加えた¹²⁾。キニジンは MDR1 P-糖蛋白の阻害剤として知られており、またラットにおいて物性から予想されるよりも低い脳移行性しか示さないことが報告されていた。**Fig. 1** はキニジン投与後 10 分における脳対血漿中濃度比を示している¹²⁾。正常マウスではキニジンの脳移行性は極めて低いものの、MDR1 P-糖蛋白阻害剤 PSC 833 投与によりその脳内分布性は上昇している (**Fig. 1**)¹²⁾。これに対し *mdr1a* ノックアウトマウスでは、正常マウスに比べて極めて高い脳移行性が観察される一方で、PSC 833 は有意な効果を示さなかった (**Fig. 1**)¹²⁾。これらの結果はキニジンが MDR1 P-糖蛋白の基質となるため、その脳移行が抑制されていることを示している¹²⁾。

3. 血液脳関門における有機アニオン系化合物の排出機構

一方で MDR1 P-糖蛋白によってのみでは、いくつかの化合物の血液脳関門を介した排出を説明しきれないものと考えられる。すなわち、一般に MDR1 P-糖蛋白は主として脂溶性の高い中性および塩基性化合物を基質とするが、いくつかの有機アニオン系化合物もこの関門を介して脳から血液へと排出を受けることが示唆されている。たとえば後述する distributed model 解析により、 β -ラクタム系抗生物質であるセフォジジムの血液脳関門透過性は、血液から脳方向へよりも脳から血液方向のほうが大きいことが示されている^{7,8)}。また、1-ナフトールのグルクロン酸抱合体¹³⁾および *p*-アミノ馬尿酸¹⁴⁾などの化合物は、脳実質内にインスリンとともに微小注入後、飽和性を有する機構により速やかに脳から消失することが示されている。これらの化合物がいずれも multidrug resistance associated protein (MRP) ファミリーの基質となること¹⁵⁻¹⁷⁾を考慮すると、MRP ファミリーが血液脳関門の血管側膜上に発現され、基質の排出に関与する可能性が示唆された。ここで、MRP ファミリーは MDR1 P-糖蛋白と同様、分子内に 2 つの ATP-結合領域を有し、ATP の加水分解により基質を細胞外へと排出する ABC トランスポーターに属する¹⁵⁻¹⁷⁾。MRP1 は多剤耐性腫瘍細胞よりクローン化された膜蛋白であり、MRP1 を遺伝子導入すると MDR1 P-糖蛋白と類似した抗癌剤耐性スペクトル(抗ビンカルカロイド耐性、抗アントラサイクリン耐性など)が得られるが、単離した細胞膜を用いた検討によると、MRP1 はグルタチオン抱合体などを含む有機アニオン系化合物を基質とすることが示されている¹⁵⁻¹⁷⁾。現在、MRP1 はこれらの MDR1 基質を還元型グルタチオンと共輸送すると

Fig. 1 —Brain to plasma concentration ratio of quinidine.

Brain to plasma concentration of quinidine in normal and *mdr1a* (-/-) mice were determined at 10 min after i. v. injection of quinidine. Effect of intravenously administered PSC 833 (10 mg/kg) was also examined. Taken from Ref. 12 with permission of the publisher.

いう仮説が提唱されている¹⁵⁻¹⁷). MRP には 7 種類のファミリー蛋白の存在が知られているが、種々有機アニオン系化合物の輸送に関与することが示されているのは MRP1, 2, 3 である¹⁵⁻¹⁷).

著者らは、血液脳関門における MRP の役割についてマウス脳毛細血管内皮細胞由来の培養細胞 MBEC4 細胞を用いて検討を加えた^{18,19}). この細胞は単層培養するとディッシュ付着面が脳側に、メディアム面が血液側に対応すべく、極性をもって生育する特徴があり、実際に MDR1 P-糖蛋白は血液側膜に局在することが報告されている²⁰). この細胞にモノクロロバイメイン(MCB)を負荷し、細胞内でそのグルタチオン抱合体(グルタチオンバイメイン; GS-B)を生成させた。ここで GS-B は水溶性の高い MRP ファミリー基質である¹⁵⁻¹⁷). MCB 負荷後の GS-B の血液側および脳側への排出について検討を加えたところ、**Fig. 2** に示すように、この抱合体は血液側へと高親和性の輸送系により排出されるのに対し、脳側へは低親和性あるいは単純拡散により排出されることが示された¹⁸). その結果として線形領域内では血液側への排出が、脳側に比べて優位となる¹⁸).

この排出機構について検討を加えるため MBEC4 細胞より膜小胞を調製し、輸送実験を行った^{18,19}). 細胞より膜小胞を作成すると閉塞した脂質二重層(小胞)が形成されるが、生理的条件下で細胞質側に面していた脂質層が外向きに配向する inside out 膜小胞と、生理的配向性を保った right side out の膜小胞が得られる (**Fig. 3**). 膜小胞を目的化合物およびその輸送駆動力となる ATP 存在下でインキュベートすると、inside out 膜小胞のみにより認識され、膜小胞への化合物の取り込みが観察される。この蓄積は生理的条件下においては細胞からメデ

Fig. 3 —Schematic diagram illustrating the orientation of membrane vesicles isolated from cells.

Fig. 4 —Time profiles for the uptake of GS-B into membrane vesicles isolated from MBEC 4 cells.

The uptake of GS-B into membrane vesicles from MBEC4 cells was examined in the presence (●) and absence (○) of ATP. Taken from Ref. 18 with permission of the publisher.

Fig. 2 —Concentration dependent efflux of GS-B from MBEC4 monolayer.

MBEC4 monolayer was preloaded with MCB in order to examine the efflux of intracellularly formed GS-B into the luminal (●) and antiluminal (○) compartments. Taken from Ref. 18 with permission of the publisher.

Fig. 5 —Expression of mrp1 in MBEC4 and freshly isolated rat cerebral endothelial cells. Expression of mrp1 and mdr1 P-glycoprotein was determined by Northern (lane a) and Western (lanes b and c) blot analyses. MRP r1 and C219 antibodies were used to visualize the mrp1 and mdr1 P-glycoprotein, respectively. In panel a, lanes 1 and 2 represent the expression of mrp1 and mdr1 mRNA in MBEC4 cells, respectively. In panel b, lanes 1 and 2 represent the expression of mrp1 protein in the freshly isolated rat cerebral endothelial and MBEC 4 cells, respectively. In panel c, the expression of mdr1 P-glycoprotein in MBEC4 cells was visualized. Taken from Ref. 19 with permission of the publisher.

ウム中への排出に対応している。Fig. 4にはMBEC4膜小胞へのGS-Bの取り込みの経時変化を示すが、この抱合体の取り込みはATPにより促進され、輸送にMRPファミリーが関与することが示された¹⁹⁾。

この実体について検討を加えるためWestern blotを行った¹⁸⁾。Fig. 5にはその結果を示すが、抗MRP1抗体によりMBEC4細胞上に約180 kDaのバンドが検出された。一方、生理的条件下でのMRP1の発現について検討を加えるため、ラット大脳皮質より脳毛細血管内皮細胞を単離し、同様に抗MRP1抗体により認識される蛋白の発現が確認された (Fig. 5)¹⁸⁾。これらの結果は、脳毛細血管内皮細胞においてもMRPファミリーが発現され、基質の血液脳関門透過を妨げる可能性を示唆するものである^{18,19)}。脳毛細血管内皮細胞より調製したmRNAに対してdegenerated primerを用いたRT-PCRを行うことにより、MRP1, 5, 6の発現が同定されたが、さらに未知のMRPファミリー蛋白が発現されている可能性も考えられ、現在検討を進めている。

一方、脳内の化合物が血液脳関門を介して血液側へと排出されるためには、脳毛細血管内皮細胞の脳側膜上にも化合物の取り込みに関与する輸送担体が発現されなければならない。この点に関しては、すでにorganic anion transporting polypeptide (oatp) 1および2が脳毛細血管内皮細胞に発現されることが報告されている²¹⁾。ここで、oatp 1はアフリカツメガエル卵母細胞を用いた機能発現系により、ラット肝臓より有機アニオン輸送担体としてクローン化された膜蛋白である^{22,23)}。その機能発現系を用いることにより、oatp1は細胞内グルタチオンとの交換輸送により幅広い有機アニオン系化合物を細胞内に取り込むことが報告されている^{22,23)}。また、oatp2はoatp1のホモログとしてクローン化された輸送担体であり、その機能はoatp1と類似するものの、ジゴキシンや一部の塩基性化合物をも基質とするという特徴を有している^{22,23)}。さらに後述するように、organic anion transporter (oat)ファミリーも血液脳関門上に発現されている可能性も考えられ、今後の展開が期待される。また、脳内に直接微量注入した化合物の脳からの消失を測定するという方法により、現在までタウロコール酸を含むいくつかの化合物が血液脳関門における排出輸送系の基質となることが示されている²⁴⁾。

4. 血液脳脊髄液関門における薬物の排出機構

種々有機アニオン系化合物および有機カチオン系化合物が、*in vitro* 単離脈絡叢上皮細胞により能動的に取り込まれること、これらの化合物は*in vivo* 脳室内投与後速やかに脳脊髄液より消失することから、脈絡叢上皮組織が化合物の脳脊髄液から血液への排出に関与すること

が示唆されてきた²⁵⁻³⁰⁾。ここで、単離脈絡叢への化合物取り込みは、主として刷子縁膜を介した脳脊髄液から上皮組織への輸送を反映するものと考えられる³⁰⁾。著者らはすでに一連の β -ラクタム系抗生物質を用いた上述の*in vitro* および*in vivo* 実験を行い、両者の輸送速度論パラメーターを定量的に比較検討することにより、単離脈絡叢を用いた輸送実験結果から、*in vivo* における脳脊髄液からの排出を定量的に予測しうることを示してきた³¹⁾。さらにベンジルペニシリンが単離脈絡叢により Na^+ -非依存性能動輸送により取り込まれること、この輸送には一部アニオン交換輸送系が関与することを示してきた^{27,32)}。

最近になり、脈絡叢上皮組織の刷子縁膜上にはoatp1が発現されることが免疫組織化学の手法により明らかとされた³³⁾。著者らはさらに脈絡叢上皮細胞の血液側膜上にはMRPが発現され、上皮組織から血液への排出に関与するという仮説をたて、oatp1およびMRPファミリーの共通の基質となる 17β -エストラジオール 17β -D-グルクロナイド($\text{E}_217\beta\text{G}$)^{15-17,22,23)}の輸送について検討を加えた³⁴⁾。 $\text{E}_217\beta\text{G}$ を脳脊髄液の流れのマーカーとなるイヌリンとともに脳室内投与し、脳脊髄液からの消失を測定したところ、投与後20分における脳脊髄液中残存量はイヌリンが投与量の40-50%であったのに $\text{E}_217\beta\text{G}$ では投与量の2%であった³⁴⁾。さらに $\text{E}_217\beta\text{G}$ の消失は、共に脳室内に投与したプロベネシドによりイヌリンと同程度にまで低下した³⁴⁾。一方、脳室内投与後20分後では脈絡叢には $\text{E}_217\beta\text{G}$ はほとんど残存しておらず、この化合物が経細胞輸送を受けて血液側へと排出されることが示唆された³⁴⁾。単離脈絡叢を用いた*in vitro* 取り込み実験を行った結果、 $\text{E}_217\beta\text{G}$ は K_m 値が $3.43\ \mu\text{M}$ の飽和性を有する課程により取り込まれることが示された³⁴⁾。oatp1による $\text{E}_217\beta\text{G}$ 輸送の K_m 値が約 $3\ \mu\text{M}$ と報告されていること^{22,23)}を考慮すると、 $\text{E}_217\beta\text{G}$ は脈絡叢上皮細胞の刷子縁膜上に発現されるoatp1により、脳脊髄液より上皮組織中へと取り込まれるものと考えられた。一方、上述の*in vivo*の結果からは、上皮細胞の血液側膜上に排出に関与する輸送担体が存在することが示唆されている。著者らはMRP1の脈絡叢における発現について検討を加えた³⁴⁾。脈絡叢上皮細胞およびMRP1が高発現されることが報告されている肺よりRNAを抽出し、グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素を基準対照化合物とし、定量的RT-PCRによりそれぞれの組織におけるMRP1の発現について検討を加えた³⁴⁾。その結果をFig. 6に示すが、脈絡叢においては肺の4-5倍程度のMRP1 mRNAが発現されることが示された³⁴⁾。さらに、 $12.5\ \mu\text{g}$ 蛋白および $6.25\ \mu\text{g}$ 蛋白を含有する脈絡叢および肺の可溶化組織に対して、抗MRP1抗体を用いたWestern blotを行った

Fig. 6 —RT-PCR analysis to determine the expression of MRP1 in rat choroid plexus. RNA from rat choroid plexus (CP) and lung was subjected to RT-PCR to determine the expression level of MRP1. As a control, the expression of G3PDH was examined. Ordinate represents the amount of amplified PCR fragments. Taken from Ref. 34 with permission of the publisher.

Fig. 7 —Western blot analysis to determine the expression of MRP1 in rat choroid plexus. The lysate of the choroid plexus (CP) and lung (6.25 and 12.5 µg protein) was subjected with the Western blot analysis using MRP r1 antibody. Taken from Ref. 34 with permission of the publisher.

ところ、脈絡叢上皮組織においては蛋白レベルにおいても肺の4-5倍程度のMRP1の発現が観察された(**Fig. 7**)³⁴⁾。上述の*in vivo*の結果をも考慮するとMRP1が脈絡叢上皮細胞血管側膜上に局在し、化合物の血液側への排出に関与することが示唆された³⁴⁾。この結果は、最近 Wijnholds らによる検討結果により支持された³⁵⁾。Wijnholds ら³⁵⁾は、免疫組織化学により脈絡叢上皮細胞血管側膜上の抗癌剤エトポシドに着目し、その中枢神経系内における分布について検討を加えた。エトポシドは MRP1 基質であるとともに、MDR1 P-糖蛋白によっても輸送されるため、mdr1a/1b/mrp1-ノック

アウトマウスと、mdr1a/1b-ノックアウトマウスの間での比較がなされた³⁴⁾。その結果、エトポシド静脈内投与後の脳脊髄液対血漿濃度比は、mdr1a/1b/mrp1 ノックアウトマウスで mdr1a/1b ノックアウトマウスよりも有意に大きく、mrp1 の脈絡叢上皮細胞における輸送機能が示された³⁵⁾。

上述の結果は、脈絡叢上皮細胞を介したベクトル輸送における oatp1 と MRP1 の協奏的機能を示しているが、刷子縁膜における有機アニオン系化合物の輸送は oatp ファミリーによってのみでは説明しきれない。著者らは E₂17βG の脈絡叢取り込みに対して、300 µM のベンジルペニシリンが有意な阻害効果を示さないことを見出しているが³⁴⁾、ベンジルペニシリンの脈絡叢取り込みの K_m 値が 60-100 µM 程度であること²⁷⁾、さらに oatp1 を発現する COS-7 細胞ではベンジルペニシリンの有意な取り込みが観察されないことを考慮すると、この抗生物質に対して輸送活性を有する organic anion transporter (oat) ファミリーの関与が推測される。oat1 はラット腎尿再管上皮細胞において、*p*-アミノ馬尿酸などの有機アニオン系化合物を、血液から上皮細胞へと、細胞からの α-ケトグルタル酸などの排出と交換輸送により取り込む輸送担体としてクローン化された膜蛋白である³⁶⁾。このような輸送担体の存在により、著者らのベンジルペニシリンの脈絡叢における取り込みがアニオン交換輸送系によるという結果³²⁾を説明しうる。実際、最近になり Pritchard らはこの仮説を支持する結果を報告している³⁷⁾。Pritchard ら³⁷⁾はウシ脈絡叢より刷子縁膜を調製し、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)の輸送について検討を加えた。その結果、2,4-D の膜小胞への取り込みは外向きのグルタル酸勾配により促進され、アニオン交換輸送系の存在が示唆された³⁷⁾。さらに 2,4-D の取り込みは外液にグルタル酸を存在させ、同時に内向き Na⁺-勾配をかけることによっても促進された³⁷⁾。この実験結果は、グルタル酸が Na⁺ と共輸送されることにより細胞内に濃縮され、その結果として 2,4-D とグルタル酸の交換輸送が観察されと考えることにより説明される³⁷⁾。同様に単離ラット脈絡叢においても、Na⁺-およびグルタル酸存在下での 2,4-D の取り込みの促進が観察されており³⁷⁾、一連の結果は、アニオン交換輸送活性を有する oat ファミリーの刷子縁膜上の存在により説明されうるものである。

一方、物性上有機カチオンに分類されるシメチジンも、血液脳脊髄液関門を介して脳脊髄液から血液へと能動的に排出されることが示唆されている^{25), 26)}。単離脈絡叢を用いた取り込み実験の結果、シメチジンのラット単離脈絡叢への取り込みは Na⁺-非依存的な能動輸送によるものであり、ベンジルペニシリンとの間で相互の阻害作用が観察される²⁶⁾。この機構については未解明で

あったが、最近になり有機アニオン系化合物およびシメチジンを基質とする輸送担体 *oat3* が同定されるに至り、その分子機構が明らかとされつつある³⁸⁾。*oat3* は脈絡叢上皮細胞にも発現され、ベンジルペニシリンをも基質とすることから、これらの化合物の脈絡叢取り込みに関与する可能性が考えられる。

5. 各輸送課程の統合による脳内薬物分布の予測

上述のように、血液脳関門および血液脳脊髄液関門における薬物輸送系の実体は、最近分子レベルでも明らかとされつつあるが、中枢神経系内での薬物分布は各輸送課程を統合して考慮することによりはじめて正確に記述される。著者らは β -ラクタム系抗生物質^{7,8,39)}、抗 HIV 薬(アジドチミジン、デオキシイノシンなど)⁴⁰⁾、ニューキノロン系抗生物質⁴¹⁾をモデルとし、これらの化合物の中枢神経系内における分布を、生理解剖学的知見に基づいた薬物速度論モデル (spatially distributed model)⁴²⁾により解析した。Fig. 8 に示すように、このモデルでは、(1) 血液脳関門を介した血液と脳細胞外液の間のフラックス、(2) 血液脳脊髄液関門を介した血液と脳脊髄液の間のフラックス、(3) 脳脊髄液の turn over, (4) 脳実質内の化合物の拡散、(5) 脳室上衣を介した脳細胞外液と脳脊髄液間のフラックスが考慮されている^{7,8,39-42)}。著者らは、(1) 目的化合物を静脈内投与後の脳実質内および脳脊髄液中濃度の経時変化、および(2) 脳脊髄液中に目的化合物および主として脳脊髄液の turn over によって消失する化合物を直接投与後の、脳脊髄液中濃度の経時変化を測定し、これらの実測値を distributed model のラプラス変換解に対してあてはめ計算を行った^{7,8,39-41)}。その結果、実験に用いた上述の化合物に対して、血液脳関門および血液脳脊髄液関門の両関門において、中枢神経系から血液へと排出方向に働くベクトル輸送系の存在が示唆された^{7,8,39-41)}。さらに、

Fig. 8 —Schematic diagram illustrating the spatially distributed model of the central nervous system. Taken from Ref. 40 with permission of the publisher.

Fig. 9 —Predicted concentration of pefloxacin in the central nervous system after i. v. administration. Concentration of pefloxacin in the brain was calculated as a function of the distance from the CSF surface based on the spatially distributed model. Taken from Ref. 41 with permission of the publisher.

このモデルに基づき化合物の脳内濃度推移を、脳脊髄液表層からの距離の関数として示すことができた (Fig. 9)⁴¹⁾。

6. おわりに

以上、血液脳関門および血液脳脊髄液関門における薬物輸送系に関する現在までの知見を、著者らの研究結果を中心に紹介した。今後さらに薬物動態に影響を与える新規輸送担体のクローニング、および特異的阻害剤/ノックアウトマウスを用いることによる機能解析が必要とされる。また、特に排出輸送活性を有する MRP ファミリーを例とした場合、脈絡叢上皮組織においては basal 側(血管側)に局在性を示す MRP1 が発現され、中枢からの化合物排出に関与するのに対し^{33,34)}、肝細胞においては apical 側(胆管側)に局在を示す MRP2 が発現され、全身循環血からの化合物除去に関与している¹⁵⁻¹⁷⁾。ここで、MRP2 の基質特性は MRP1 と区別しえないほど類似していること¹⁵⁻¹⁷⁾を考慮すると、生体は極めて合目的に排出ポンプを局在化させることにより異物からの防御を行っているものと考えられ、この観点から、上皮細胞におけるベクトル輸送に関与する輸送担体の細胞内ソーティング機構の解明に興味を持たれる。また、これら輸送担体の発現調節機構も関門形成という観点から重要な研究課題となろう。さらに薬物動態学的観点からは、排出輸送機能を調節することにより目的薬物の脳内分布性の増大が図れるものと考えられ、今後の

検討が必要とされる。

謝 辞：本研究は東京大学薬学部製剤学教室，東京大学大学院薬学系研究科製剤設計学教室で行われたものであり，花野 学名誉教授，杉山雄一教授に深謝いたします。また，伊賀立二現東京大学大学院医学系研究科教授，澤田康文現九州大学大学院薬学研究科製剤学教室，寺崎哲也現東北大学大学院薬学研究科教授のほか，論文の共著者となられた方々に深謝いたします。

文 献

- 1) Rapoport, S. I.: *Blood-brain Barrier in Physiology and Medicine*. Raven, New York (1976).
- 2) Bradbury, M. W.: *The Concept of a Blood-brain Barrier*. Wiley, Chichester (1979).
- 3) Pardridge, M. W.: *Peptide Drug Delivery to the Brain*. Raven, New York (1991).
- 4) Tsuji, A. and Tamai, I.: Blood-brain barrier function of P-glycoprotein. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **25**: 287-298 (1997).
- 5) Schinkel, A. H.: The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin. Cancer Biol.* **8**: 161-170 (1997).
- 6) Terasaki, T. and Hosoya, K.: The blood-brain barrier efflux transporters as a detoxifying system for the brain. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **36**: 195-209 (1999).
- 7) 鈴木洋史，杉山雄一：水溶性薬物の中樞神経内分布に関する速度論的解析：血液脳関門，血液脳脊髄液関門透過性に基づく構築。薬学雑誌 **114**: 950-971 (1994)。
- 8) Suzuki, H., Terasaki, T. and Sugiyama, Y.: Role of efflux transport across the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier on the disposition of xenobiotics in the central nervous system. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **25**: 257-285 (1997).
- 9) Sugiyama, Y., Kushihara, H. and Suzuki, H.: Kinetic and biochemical analysis of carrier-mediated efflux of drugs through the blood-brain and blood-CSF barriers: Importance in the drug delivery to the brain. *J. Control. Rel.* **620**: 179-186 (1999).
- 10) 鈴木洋史：輸送担体を介した異物排除機構の解明，薬学雑誌，**119**: 822-834 (1999)。
- 11) 鈴木洋史：異物解毒機構としての薬物排出輸送系の解析とその薬物分布に及ぼす影響，薬学研究の進歩，研究成果報告集，(印刷中) (2000)。
- 12) Kushihara, H., Suzuki, H., Terasaki, T., Kakee, A., Lemaire, L. and Sugiyama, Y.: P-glycoprotein mediates the efflux of quinidine across the blood-brain barrier. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **283**: 574-580 (1997).
- 13) Leininger, B., Ghersi-Egea, J. F., Siest, G. and Minn, A.: *In vivo* study of the elimination from rat brain of an intracerebrally formed xenobiotic metabolite, 1-naphtyl- β -D-glucuronide. *J. Neurochem.* **56**: 1163-1168 (1991).
- 14) Kakee, A., Terasaki, T. and Sugiyama, Y.: Selective brain to blood efflux transport of *para*-aminohippuric acid across the blood-brain barrier: *In vivo* evidence by use of the brain efflux index method. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **283**: 1018-1025 (1997).
- 15) Kushihara, H., Suzuki, H. and Sugiyama, Y.: The role of P-glycoprotein and canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) in the hepatobiliary excretion of drugs. *J. Pharm. Sci.* **87**: 1025-1040 (1998).
- 16) Suzuki, H. and Sugiyama, Y.: Excretion of GSSG and glutathione conjugates mediated by MRP1 and cMOAT/MRP2. *Semin. Liv. Dis.* **18**: 359-376 (1998).
- 17) Suzuki, H. and Sugiyama, Y.: Transporters for bile acids and organic anions. in (eds) G. Amidon and W. Sadee: "Membrane transporters as drug targets" Plenum Publishing Corp., New York, pp. 387-440 (1999).
- 18) Homma, M., Suzuki, H., Kushihara, H., Naito, M., Tsuruo, T. and Sugiyama, Y.: High affinity efflux transport for glutathione conjugates on the luminal membrane of a mouse brain capillary endothelial cell line (MBEC4). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **288**: 198-203 (1999).
- 19) Kushihara, H., Suzuki, H., Naito, M., Tsuruo, T. and Sugiyama, Y.: Characterization of efflux transport of organic anions in a mouse brain capillary endothelial cell line. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **285**: 1260-1265 (1998).
- 20) Tatsuta, T., Naito, M., Oh-hara, T., Sugawara, I. and Tsuruo, T.: Functional involvement of P-glycoprotein in blood-brain barrier. *J. Biol. Chem.* **267**: 20383-20391 (1992).
- 21) Gao, B., Stieger, B., Noe, B., Fritschy, J. M. and Meier, P. J.: Localization of the organic anion transporting polypeptide 2 (Oatp2) in capillary endothelium and choroid plexus epithelium of rat brain. *J. Histochem. Cytochem.* **47**: 1255-1264 (1999).
- 22) Meier P. J., Eckhardt U., Schroeder A., Hagenbuch B. and Stieger B.: Substrate specificity of sinusoidal bile acid and organic anion uptake systems in rat and human liver. *Hepatology* **26**: 1667-1677 (1997).
- 23) Suzuki, H. and Sugiyama, Y.: Transport of drugs across the hepatic sinusoidal membrane: Sinusoidal drug influx and efflux in the liver. *Semin. Liv. Dis.*, (2000). (in press)
- 24) Kitazawa, T., Terasaki, T., Suzuki, H., Kakee, A. and Sugiyama, Y.: Efflux of taurocholic acid across the blood-brain barrier: Interaction with cyclic peptides. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **286**: 890-895 (1998).
- 25) Suzuki, H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T. and Hanano, M.: Transport of cimetidine by the rat choroid plexus *in vitro*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **239**: 927-935 (1986).
- 26) Suzuki, H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T. and Hanano, M.: Efflux of cimetidine from the rat cerebrospinal fluid. *Drug Metabol. Disposit.* **16**: 328-330 (1988).
- 27) Suzuki, H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T. and Hanano, M.: Transport of benzylpenicillin by the rat choroid plexus *in vitro*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **242**: 660-665 (1987).
- 28) Nohjoh, T., Suzuki, H., Sawada, Y., Iga, T. and Hanano, M.: Transport of cefodizime, a novel third generation cephalosporin antibiotic, in isolated rat choroid plexus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **250**: 324-328 (1989).
- 29) Suzuki, H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T., Hanano, M. and Spector, R.: Transport of imipenem, a novel carbapenem antibiotic, in the rat central nervous system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **250**: 979-984 (1989).
- 30) Spector, R.: Drug transport in the mammalian central nervous system: Multiple complex systems—A critical analysis and commentary. *Pharmacol.* **60**: 58-73 (2000).
- 31) Ogawa, M., Suzuki, H., Sawada, Y., Hanano, M. and Sugiyama, Y.: Kinetics of active efflux *via* choroid plexus

- of β -lactum antibiotics from the CSF into the circulation. *Am. J. Physiol.* **266**: R392–R399 (1994).
- 32) Suzuki, H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T. and Hanano, M.: Anion exchanger mediates benzylpenicillin transport in rat choroid plexus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **243**: 1147–1152 (1987).
- 33) Angeletti, R. H., Novikoff, P. M., Juvvadi, S. R., Fritschy, J. M., Meier, P. J. and Wolkoff, A. W.: The choroid plexus epithelium is the site of the organic anion transport in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **94**: 283–286 (1997).
- 34) Nishino, J., Suzuki, H., Sugiyama, D., Kitazawa, T., Ito, K. and Sugiyama, Y.: Transepithelial transport of organic anions across the choroid plexus: Possible involvement of organic anion transporter and multidrug resistance associated protein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **290**: 289–294 (1999).
- 35) Wijnholds, J., de Lange, E. C. M., Scheffer, G. L., van den Berg, D.-J., Mol, C. A. A. M., van der Valk, M., Schinkel, A. H., Scheper, R. J., Breimer, D. D. and Borst, P.: Multidrug resistance protein 1 protects the choroid plexus epithelium and contributes to the blood-cerebrospinal fluid barrier. *J. Clin. Invest.* **105**: 279–285 (2000).
- 36) Sekine T., Watanabe N., Hosoyamada M., Kanai Y. and Endou H.: Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter. *J. Biol. Chem.* **272**: 18526–18529 (1997).
- 37) Pritchard, J. B., Sweet, D. H., Miller, D. S. and Walden, R.: Mechanism of organic anion transport across the apical membrane of choroid plexus. *J. Biol. Chem.* **274**: 33382–33387 (1999).
- 38) Kusuhashi H., Sekine T., Utusnomiya-Tate N., Tsuda M., Kojima R., Cha S. H., Sugiyama Y., Kanai Y. and Endou H.: Molecular cloning and characterization of a new multispecific organic anion transporter from rat brain. *J. Biol. Chem.* **274**: 13675–13680 (1999).
- 39) Matsushita, H., Suzuki, H., Sugiyama, Y., Sawada, Y., Iga, T., Kawaguchi, Y. and Hanano, M.: Facilitated transport of cefodizime into the rat central nervous system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **259**: 620–625 (1991).
- 40) Takasawa, K., Terasaki, T., Suzuki, H., Ooie, T. and Sugiyama, Y.: Distributed model analysis of 3'-azido-3'-deoxythymidine and 2',3'-dideoxyinosine distribution in brain tissue and CSF. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **282**: 1509–1517 (1997).
- 41) Ooie, T., Terasaki, T., Suzuki, H. and Sugiyama, Y.: Kinetic evidence for active transport at the blood-brain barrier of quinolone antibiotics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **283**: 293–304 (1997).
- 42) Collins, J. M. and Dedrick, R. L.: Distributed model for drug delivery to CSF and brain tissue. *Am. J. Physiol.* **245**: R303–R310 (1983).