トランスポーターを利用した薬物の消化管吸収改善

野沢 敬, 玉井 郁巳

要約: 経口投与可能な薬物を創製するためには、溶解性、安定性、膜透過性のような多様な因子を克服する必要がある。Biopharmaceutical Classification System (BCS) において Class 1 や Class 2 に分類される薬物は単純拡散による高い膜透過性を有する場合が多いが、初回通過効果を受けやすい。一方、Class 3 に属する薬物は溶解性や初回通過効果の問題は少ないが、単純拡散による膜透過は期待できず、トランスポーターを介した膜透過性改善が望まれる。本研究では、既存薬物の膜透過性をいかにして改善できるか、という課題に対して、トランスポーターに着目した吸収改善手法の提唱を試みた。トランスポーターは 300 種類以上の分子の存在が推定されており、基質選択性、発現組織、機能が多様であり、各分子の特徴を十分把握すれば消化管吸収を含め薬物動態制御に利用できる可能性がある。小腸上皮細胞において栄養物摂取に働くペプチドトランスポーター PEPT1 は基質認識性が広い。PEPT1 はプロトン勾配を駆動力とするが、その至適 pH は化合物によって異なる。本検討では、PEPT1 を介した膜輸送が消化管内生理的 pH よりも低い酸性領域で高くなり、通常では 30% 程度の吸収率しか示さない β -ラクタム抗生物質のセフィキシムに着目した。そして、PEPT1 を介したセフィキシム輸送に最適な管腔内酸性 pH を酸性高分子を用いて得ることによって、in vivo での吸収改善を試みた。酸性高分子として腸溶性製剤被膜に利用されるポリメタクリル酸誘導体を同時投与することによりセフィキシムの吸収率を 2 倍以上に改善することができた。従来、化学構造の変換無しにトランスポーターによる膜輸送改善を試みた例はなく、本成果はトランスポーター活性を利用した新しい薬物吸収改善手法を提案するもの

である。

1. はじめに

経口投与で有効な薬物を創製することは薬物療法において大きな利点を有するが、精巧な生体防御機構のためにそのデザインは容易ではない。消化管内での安定性、溶解性、小腸上皮細胞膜透過、さらに小腸上皮細胞と肝臓での初回通過効果という、多様な障壁を克服することが求められるからである。膜透過性と溶解性に着目することによってミシガン大学の Amidon 教授等は Biopharmaceutical Classification System (BCS) と呼ばれる化合物の消化管吸収性評価基準を提唱している(1)。本分類においては、膜透過性ならびに溶解性のいずれも良好な化合物群を Class 1、両者とも問題を含む化合物群を Class 4、膜透過性は良好だが溶解性に劣る化合物群を Class 2、そして膜透過性は劣るが溶解性が良好な場合を Class 3 と分類するものである(図1)。Class 1 に属する化合物は経口投与剤として問題が無い群として位置づけられる。コンビナトリアルケミストリーに基づくような合成法によると Class 2 や Class 4 に分類される化合物が多

Class 1 High Solubility High Permeability	Class 2 Low Solubility High Permeability
Class 3 High Solubility Low Permeability	Class 4 Low Solubility Low Permeability

図1 Biopharmaceutical Classification System(BCS)

キーワード: トランスポーター, ペプチドトランスポーター PEPT1, Eudragit, 消化管吸収, pH 依存性

東京理科大学薬学部 (〒278-8510 野田市山崎 2641)

e-mail: tamai@rs.noda.tus.ac.jp

原稿受領日: 2005 年 1 月 5 日, 編集委員会依頼原稿

Title: Improvement of intestinal absorption of drugs by activating peptide transporter PEPT1 by acidic polymers

Author: Takashi Nozawa, Ikumi Tamai

くなる傾向があり、初回通過効果の問題も含めて考えると、経口投与可能な医薬品の創製は容易ではないことが理解される。しかし、Class 2 に属する溶解性に問題を含む化合物は、溶解補助剤など剤形・製剤的技術によりある程度改善は可能であるとされる。それでは、Class 3 や Class 4 に分類される化合物群の膜透過性はいかに改善できるであろうか？この課題に対する明確な答えはないが、小腸上皮細胞の膜透過機構を明確にすることによってその解決策が見出されないと考え、これまで多くの薬物の消化管吸収機構が研究されている。膜透過は基本的には脂溶性・分子サイズ・水素結合能が影響する単純拡散と、化合物選択的なトランスポーターを介する担体介在輸送機構に分類される。小腸上皮細胞は栄養物質の吸収に働くが、タンパク質や炭水化物の消化産物であるアミノ酸、ペプチド、あるいはヘキソースのような低分子栄養物の膜透過にはトランスポーターが選択的な膜輸送機構として働く。また、水溶性ビタミン類や胆汁酸、遊離脂肪酸、核酸など様々な水溶性栄養成分の吸収にもそれぞれ選択的なトランスポーターが存在する。これら効率的な栄養物吸収に働くトランスポーターを薬物にも利用できれば高い吸収性が期待できることは容易に推測される。実際に 20 年ほど前から β -ラクタム抗生物質のようなペプチド系薬物の吸収においてはトランスポーターの関与が提唱され、現在ではペプチドトランスポーター PEPT1 がペプチド系薬物の吸収に働くことが実証されるに至っている(2,3)。

しかし、薬物吸収にトランスポーターが関与していることは結果論にすぎない。本稿では、より積極的なトランスポーターの利用による吸収促進を進めることができるか、という立場からペプチドトランスポーターに着目した一つのアプローチを提案したい。

2. ペプチドトランスポーターファミリー

ペプチドトランスポーター (PEPT1, SLC15A1) は、proton-dependent oligopeptide transporters (POT family) のメンバーであり、HUGO (human genome nomenclature organization) によって SLC15A ファミリーに分類されている。ファミリーには現在、4 種類のメンバーが報告されており、それぞれ、PEPT1 (SLC15A1)、PEPT2 (SLC15A2)、PHT2 (PTH3, SLC15A3) および PHT1 (hPTR4, SLC15A4) と呼ばれている。SLC15A ファミリーは共通してジ・トリペプチドを基質とする。Histidine peptide transporter である PHT1 や PHT2 は、histidine のようなアミノ酸も輸送するが、PEPT1 や PEPT2 はアミノ

酸を一切輸送しない。本ファミリーの中で、PEPT1 は小腸に非常に強く発現し、しかも小腸上皮細胞の刷子縁膜に局在することから、タンパク質の消化産物の吸収に関与していると考えられている。一方、PEPT2 は腎臓上皮細胞刷子縁膜に発現し、ジ・トリペプチドの再吸収に関与すると考えられるが、小腸には発現していない。PHT1 や PHT2 に関しては、小腸での役割は未だ明らかになっていない。したがって、現地点では、PEPT1 は小腸における最も重要なトランスポーターの一つとして認識されており、本稿もまた、PEPT1 に注目した薬物の消化管吸収改善に着目した。

3. PEPT1 の機能特性と構造修飾による吸収促進への応用

PEPT1 は上述のように、ジペプチドあるいはトリペプチドを基質として認識するが、アミノ酸自体やトリペプチド以上のアミノ酸残基数から成るペプチドは輸送しない。従ってアミノ酸残基数に関しては厳格に制限されている。これに対して構成アミノ酸の種類についての選択性は無く、タンパク質を構成する 20 種の全てのアミノ酸から成るジペプチドおよびトリペプチド (組み合わせとしては 8400 種類が考えられる) を認識・輸送すると推定されている。

PEPT1 は β -ラクタム抗生物質(4-7)、アンジオテンシン変換酵素阻害薬(8)、抗ウイルス薬バラシクロビル(9)および抗腫瘍薬ベスタチン(10)も輸送する。その基質認識性においては、基本的には遊離アミノ基、遊離カルボキシル基およびペプチド結合が必要となる。しかし、PEPT1 の基質となる薬物は必ずしもそれら全てを満たしておらず、アミノ基やカルボキシル基は PEPT1 による認識には必須とは言い切れない。さらに、バラシクロビルはペプチド結合を含まないが、PEPT1 に輸送されるなど、未だ PEPT1 の基質認識機構は明確になっていない。即ち裏返せば、構成アミノ酸に関してはその認識性は幅広いと言える。従って、アミノ酸様薬物をペプチド誘導化すれば、PEPT1 を介した膜輸送活性を利用した上皮細胞透過性の改善が可能であると期待できる。

筆者らは、L-dopa にフェニルアラニンを付加させた L-dopa-phenylalanine を合成し、膜透過性を評価した。その結果、本ペプチド誘導体は PEPT1 を介して膜輸送され、しかも Caco-2 細胞を用いた膜輸送評価では、L-dopa として投与したときに比べ、はるかに高い上皮細胞透過性(但し、実際の透過が検出されたのは代謝物の L-dopa ならびにドパミンの和)を得ることができた(11)。このように、ペプチド誘導化に

図2 セフィキシムおよびセファドロキシルの Caco-2 細胞による取り込みの pH 依存性
セフィキシム(2 mM)およびセファドロキシル(2 mM)の Caco-2 細胞による 15 分間の取り込みを測定した。

よる, いわばプロドラッグ的な手法による小腸トランスポーターを利用した吸収改善は可能である。

4. PEPT1 を介した薬物輸送・吸収の in vitro と in vivo での矛盾

化合物自身の構造を変えることによる吸収改善では, プロドラッグからの活性体の放出やプロドラッグ自体の評価も行う必要があるため, 構造修飾は必ずしも適切なアプローチではない。そこで BCS Class 2 のような化合物で試みられる製剤技術による溶解性の改善のように, BCS Class 3 のような化合物について構造修飾無しに膜透過性を改善させることはできないかと考えた。本研究では, 新たな膜透過性改善手法として, 構造修飾を伴わず, 製剤的工夫によるトランスポーターを介した膜透過性改善による吸収増大の手法を提唱した。このようなアプローチは過去には無く, 全く新しい発想と考えるが, そのきっかけは -ラクタム抗生物質の吸収性が誘導体間で大きく異なることであった。 -ラクタム抗生物質はいずれも分子内にペプチド構造を有している。その中で, アミノ基を分子内に有した両性イオン型の誘導体は PEPT1 によって吸収される場合が多いが, アミノ基を持たない誘導体では脂溶性プロドラッグを除いて, 吸収性は高いものではない。これはアミノ末端を有した場合の方が生理的ペプチドに構造上に類似性が高いため, 効率的に吸収されやすくなるためであると考えられる。また, PEPT1 は, ペプチドを輸送する際, プロトン勾配を駆動力とするプロトン共輸送トランスポーターとして機能する。小腸上皮細胞近傍では, 生理的に観測され

る弱酸性 pH 環境が PEPT1 にプロトンを供給していると考えられる。しかし, 図2に示すように, PEPT1 による膜透過の pH プロファイルが誘導体間で異なる現象が見られる。セフィキシム cefixime はアミノ基の代わりにカルボキシル基を持つジカルボン酸型誘導体であるが, 良好な PEPT1 の基質であり, 酸性 pH ほど PEPT1 を介した膜輸送活性は高くなる。これに対してセファドロキシル cefadroxil はカルボキシル基ならびにアミノ基を有する両性イオン型であり, pH6 付近で至適となるような pH プロファイルを示す。また, Caco-2 細胞における膜輸送活性は, pH6 においてはセファドロキシルがセフィキシムより高いが, pH5 ではセフィキシムの方がより高い値を示す(図2)。一方, in vivo での評価として経口投与後の吸収率はセファドロキシルの場合はほぼ完全であるが, セフィキシムは 30% 程度で必ずしも高くない。また, in vitro 評価系でのペプチドトランスポーターへの親和性はセファドロキシルよりセフィキシムの方がミカエリス定数 K_m 値として小さな値を持つ。これらを考え合わせると, 両化合物の消化管吸収ならびにペプチドトランスポーターを介した輸送特性から以下の考察が可能である。In vitro 評価系でセフィキシムがセファドロキシルよりペプチドトランスポーターに対する親和性が高いにも関わらず, in vivo での吸収率が低いのは, 生理的条件下における小腸管腔内 pH がセフィキシムの PEPT1 を介した輸送の至適 pH と異なり, セファドロキシルの輸送に適しているためであると考えられる。この考察に基づけば, PEPT1 の基質になる化合物であっても小腸上皮細胞膜透過性が低い場合には, 小腸管腔内 pH を, その化合物の PEPT1 に対する親和性にとって至適になるように調節できれば, 膜透過性を改善できると期待できる。

5. 添加剤によるPEPT1を介した膜輸送改善

小腸管腔内 pH を低下させるためにはどのような手法があるか? 低分子化合物ではそれ自体の吸収まで考えなければならないため適当ではないため, プロトン放出性のポリマーを考えた(図3)(12)。既存のポリマーとして, 腸溶性製剤の被膜剤として広く用いられ, 安全性も広範囲で確認されている Eudragit L100-55 (EL) がある。EL は酸性環境では固体状態であるが, 中性付近で崩壊・溶出し, プロトンを放出するため周辺溶液を酸性 pH に保つことができる。EL を pH6.0 の緩衝液 (MES buffer) に添加すると, 緩衝液の pH は EL の添加濃度の増加に伴い低下し, 添加濃度 20% (w/v) では, およそ pH3.0 まで低下した(図4)。ま

図3 ポリマーの化学構造

図5 セフィキシムの吸収における Eudragit L100-55の効果
セフィキシム溶液(0.5 mM, MES buffer, pH6.0)に eudragit L100-55を加え、ラット小腸ループ内に投与した。初期投与量から20分後のループ内残存量を差し引いた値から吸収率を評価し、同時にループ内溶液のpHを測定した。(文献12より改変)

た、プロトン解離基を持たないポリマー Eudragit RSPO (ER) は、20% (w/v) まで pH を変化させなかったため、本検討では pH に影響しない対照として用いた。プロトン放出性ポリマーによる吸収改善を試みるには、対象化合物としてバイオアベイラビリティが高くなく、酸性 pH で PEPT1 を介する輸送活性が増大する化合物が好ましい。セファドロキシルは、高い吸収性を示し、至適輸送 pH を 6 付近に持つため、適当ではない(図2)。一方、セフィキシムはバイオアベイラビリティが 30% 程度であり、pH が低くなる程、輸送活性が増大する pH 依存性を示すため(図2)、本検討に適当な対象化合物として選択した。

図4 MES buffer の pH に対するポリマーの効果
pH 6.0 に調整した 10 mM MES buffer に eudragit L100-55 (EL, 0.1%-20%,), eudragit S100 (ES, 0.1%-20%,), eudragit RSPO (ER, 0.1%-20%,) あるいは polymethacrylic acid (PMAA, 0.1%-1%,) を加え、pH を測定した。

図6 セフィキシムの血漿中濃度におけるポリマーおよびセファドロキシルの効果
ラットにセフィキシム(2.3 mg/kg)を eudragit 存在下(EL, 500 mg/kg, ; ER, 500 mg/kg,) あるいはポリマー非存在下() に経口投与し、血漿中濃度を測定した。また、Eudragit L100-55 存在下、セフィキシム(2.3 mg/kg)とともに 2 mM() あるいは 10 mM() セファドロキシルを阻害薬として同時投与した。(文献12より改変)

まず、ラット小腸を用いた in situ closed loop 法によって、EL のセフィキシムの吸収に対する効果を測定した(図5)。ラットの回腸に約 14 cm の closed loop を作製し、セフィキシムおよび EL を含む緩衝液(MES buffer)を投与し、20 分後の loop 内残存量を初期投与量から差し引いた残差を吸収量として算出した。その結果、EL 未添加時におけるセフィキシムの見かけの吸収率は約 10% であった。また、生理現象として回腸内 pH は 8 程度まで上昇していた。一方、EL を濃度 20% (v/w) で添加した場合、CDX の吸収率が約 40% にまで上昇し、回腸管腔内 pH は 6 以下まで低下していた(図5)。以上の結果より、セフ

表 1 経口および静脈内投与後のセフィキシムの体内動態パラメーター (文献 12 より改変)

パラメータ	経口投与					静脈内 投与
	Control	+ EL	+ ER	+ CDX(10mM)・EL	+ CDX(2mM)・EL	
Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	4.1 $\pm$ 0.5	11.5 $\pm$ 1.9*	3.4 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.6**	6.4 $\pm$ 0.9	-
Tmax (h)	0.7 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.2	1.0	1.4 $\pm$ 0.2	1.0	-
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	12.6 $\pm$ 1.8	29.0 $\pm$ 2.3*	9.1 $\pm$ 0.9	12.8 $\pm$ 1.3**	26.8 $\pm$ 4.3	46.6 $\pm$ 3.4
Absolute BA (%)	27.1 $\pm$ 3.8	62.2 $\pm$ 5.0*	19.6 $\pm$ 0.9	27.5 $\pm$ 2.9**	57.6 $\pm$ 9.2	-
ke (h^{-1})	0.35 $\pm$ 0.06	0.37 $\pm$ 0.02	0.61 $\pm$ 0.23	0.38 $\pm$ 0.07	0.34 $\pm$ 0.06	0.51 $\pm$ 0.09

* Significantly different from the control values ($P < 0.05$). ** Significantly different from the + EL values ($P < 0.05$).

ィキシムの吸収は小腸管腔の pH をポリマーによって酸性化することにより上昇することが示された。そこで、実際の経口投与時における効果について実験的に確かめた。セフィキシム (2.3 mg/kg body weight) とともに EL (500 mg/kg body weight, 5% w/v) を添加した懸濁液を、胃ゾンデを用いてラットに経口投与し、セフィキシムの血漿中濃度推移を投与後 15 分から 8 時間まで測定した (図 6)。EL 添加群では非添加群と比較して、最高血漿中濃度 Cmax ならびに血漿中濃度・時間曲線下面積 AUC はそれぞれ、4.1 $\mu\text{g/mL}$ から 11.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ に、あるいは 12.6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ から 29.0 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ に増大した。同時に、静脈内投与での AUC を求め絶対的バイオアベイラビリティを算出した結果、27.1% から 62.2% までに増大した (表 1)。これに対し、最高濃度到達時間 Tmax や消失速度定数 ke には有意な変化は見られなかった。一方、pH に影響しない ER を用いた場合、セフィキシムの血漿中濃度や Tmax に大きな変化はなかった。したがって、EL による吸収促進は、ポリマーからのプロトン放出による pH の酸性化に依存していることが示された。さらに、EL により AUC や Cmax で見られる吸収増大は、PEPT1 の基質であるセファドロキシルを同時投与することによって、濃度依存的に低下した (図 6, 表 1)。しかし、Tmax および ke には有意な変化は見られなかったことから、EL によるセフィキシムの吸収改善効果は PEPT1 を介した膜輸送の活性化によることで説明できるものであった。

6. プロトン放出性ポリマーの改善

EL を用いて、セフィキシムの吸収を増大させることはできたが、現実的な応用性を考えた場合、ポリマーの投与量が大いことが問題である。本検討で用いた EL は 5% (w/v) であり、10 mL/kg body weight の懸濁液を投与しているため、EL は 0.5 g/kg となる。従って、ヒトへの投与を考えると投与量的に非常に多く、なんらかの工夫を行う必要がある。例えば、小腸

内でプロトン放出ポリマーと薬物が挙動を共にし、吸収に關する小腸上皮細胞の刷子縁膜付近の微小環境のみを局在的に酸性化するような製剤的工夫ができれば、より投与量を下げることが可能になる。また、よりプロトン放出能の高いポリマーを用いることも有効である。そこで、本検討ではプロトン放出能を持った EL 以外のポリマーも用い、その効果を比較した。プロトン解離基を持つメタクリル酸から構成される polymethacrylic acid (PMAA) ならば、酸性度が EL よりも強いいため、少ない投与量での効果が期待された。一方、Eudragit S100 (ES) はプロトン解離基の割合が EL と比較して少なく、プロトン放出能が EL よりも弱いと推定されるポリマーである。各ポリマーの緩衝液に対する効果は図 4 に示した。PMAA は 1% で pH3.5 程度に低下させ、最も効果の強いポリマーであることがわかる。また、ES も酸性化能を有するが、その効果は EL よりも弱かった。Caco-2 細胞におけるセフィキシムの取り込みに対する各種ポリマーの影響を、種々の濃度で検討した (図 7)。セフィキシムの取り込みはいずれのプロトン放出性ポリマー添加時においても上昇した。一方、ER には膜透過促進効果はなかった。注目すべきは、PMAA の場合、0.1% (w/v) を添加時にセフィキシムの取り込みは経口吸収性が良好なセファドロキシルとほぼ同等にまで上昇した結果である。EL ではセファドロキシルと同等になるには 0.3% 程度が必要であり、また、ES では 1% でも、その効果は低かった。さらに、in situ closed loop 法によって PMAA の効果を検討したところ、PMAA (1 w/v%) で EL (20 w/v%) と同等の効果を示した (図 8)。これらの結果より、効果の強いプロトン放出性ポリマーを用いることによって、投与量を低下させることは可能であることがわかった。

以上より、プロトン放出性ポリマーを利用して小腸管腔内 pH を制御することにより、ペプチド様薬物の PEPT1 を介した吸収を促進されることが可能であることが明らかとなった。この方法に基づいて考えると、

図7 セフィキシムの Caco-2 細胞による取り込みにおけるポリマーの効果
セフィキシム(2 mM)あるいはセファドロキシル(2 mM)の15分間の取り込み量を、ポリマー存在下あるいは非存在下において測定した。

図8 セフィキシムの吸収における PMAA の効果
セフィキシム溶液(0.5 mM, MES buffer, pH6.0)に PMAA を加え、ラット小腸ループ内に投与した。初期投与量から20分後のループ内残存量を差し引いた値から吸収率を評価し、同時にループ内溶液の pH を測定した。

PEPT1 のみならず、他の小腸に発現する pH 依存的なトランスポーターもターゲットとなりうる。例えば、筆者らは、モノカルボン酸トランスポーター MCT1 や、有機アニオントランスポーターの一つである OATP-B が小腸上皮細胞刷子縁膜に発現し、酸性条件下でより高い輸送活性を示すことを報告してきた(13-15)。その中でも OATP-B はフェキソフェナジンなどの薬物を含む有機アニオンを基質とするため、医薬品あるいは開発化合物の消化管吸収促進に応用できる可能性がある。投与量の問題だけでなく、pH の変化による消化管の生理環境変動に伴う副作用の有無など、確認あるいは改善すべき問題はあがるが、本戦略は、対象化合物の化学構造を変えることなく、小腸上皮細胞膜透過性を改善出来る新しい手法として位置づけられる。即ち、ペプチド構造を有するが吸収性に問題を含む BCS Class 3 に分類されるような薬物にあっては、本アプローチのような製剤学的工夫による吸収性改善が可能であることを示すことができた。

7. おわりに

最近、米国 UCSF の Benet 等(16)は Amidon 等の BCS の分類を発展させ、トランスポーターなど薬物動態に影響する因子と関連付けた考察を行った。即ち、Class 2 や Class 3 に分類される薬物の多くは P-糖タンパク質のような排出トランスポーターの基質になりやすく、Class 3 の中には今回の PEPT1 のような吸収トランスポーターによって輸送される薬物が含まれている、ということを発表した。したがって、Class 3 に分類されるような化合物においては、消化管トランスポーターを利用することができれば経口投与剤とし

ての可能性が高くなると言える。本稿では PEPT1 のみを対象にしたが、消化管には PEPT1 以外にも多様なトランスポーターが発現している。従って、各トランスポーター分子の特徴を明確にし、その活性調節手法が見いだされれば薬物の吸収改善という応用性を試みる意義は十分にある。一方、同じトランスポーターでも P-糖タンパク質のような排出型トランスポーターの場合は、その影響をいかに小さくするかという工夫を行うことが、最終的にはトランスポーターに着目した小腸上皮細胞膜透過性の改善になる。薬物の吸収には様々な因子が関わり、その問題点は多様である。膜透過機構の詳細の解明とともに、その情報を医薬品開発の現場に生かすことが今後期待される。

文 献

- 1) Lobenberg R, et al. Eur J Pharm Biopharm. 2000;50:3-12.
- 2) Tsuji A, et al. Pharm Res. 1996;13:963-977.
- 3) Tamai I, et al. J Pharm Pharmacol. 1997;49:796-801.
- 4) Saito H, et al. J Pharmacol Exp Ther. 1995;275:1631-1637.
- 5) Miyamoto K, et al. Biochim Biophys Acta. 1996;1305:34-38.
- 6) Sai Y, et al. FEBS Lett. 1996;392:25-29.
- 7) Tamai I, et al. J Pharm Pharmacol. 1997;49:796-801.
- 8) Hu M, et al. J Pharm Sci. 1988;77:1007-1011.
- 9) Balimane PV, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1998;250:246-251.
- 10) Saito H, et al. Am J Physiol. 1993;265:G289-G294.
- 11) Tamai I, et al. J Pharm Sci. 1998;87:1542-1546.
- 12) Nozawa T, et al. J Pharm Sci. 2003;92:2208-2216.
- 13) Takanaga H, et al. J Pharm Pharmacol. 1994;46:567-570.
- 14) Kobayashi D, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2003;306:703-708.
- 15) Nozawa T, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2004;308:438-445.
- 16) Wu C-Y, et al. Pharm Res. In press.

著者プロフィールは、208 頁をご参照下さい。