小腸と腎尿細管における薬物の共役輸送

乾 賢 一

京都大学医学部附属病院薬剤部 〒606 京都市左京区聖護院川原町 54

Coupled Transport of Drugs in the Intestine and Renal Tubule

Ken-ichi INUI

Department of Pharmacy, Kyoto University Hospital, Faculty of Medicine,
Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

This article deals with the analysis of drug transport systems in the plasma membranes of the intestinal and renal epithelial cells. Aminocephalosporins such as cephadrine and cephalexin, possessing an α -amino group and a carboxyl group, can be transported via common carrier system with dipeptides in the intestinal and renal brush border membranes, and that this process is driven by an inward H^+ gradient (H^+ cotransport system). The tubular secretion involves transport across basolateral membranes, and accumulation in the epithelial cells followed by efflux from the cells across brush border membranes into the urine. Tetraethylammonium (TEA), a prototype cation, is transported across basolateral membranes via carrier-mediated system, which is stimulated by an inside-negative membrane potential. TEA transport across brush border membranes is driven by an H^+ gradient via electroneutral H^+ /TEA antiport system. In contrast, *p*-aminohippurate is transported by an anion exchange mechanism in basolateral membranes. Thus, the vesicle studies have provided a great deal of information about the coupled transport of drugs in the intestine and renal tubule.

Key words : carrier-mediated transport, *p*-aminohippurate, tetraethylammonium, cephalosporin antibiotics, dipeptide, brush border and basolateral membrane, intestinal absorption, tubular secretion

1. はじめに
2. 膜輸送形式
3. 薬物吸収
 - 3・1 ジペプチドおよび β -ラクタム抗生物質の輸送
 - 3・2 ジペプチドおよび β -ラクタム抗生物質キャリアーの分子特性
4. 腎尿細管における薬物分泌
 - 4・1 カチオン性薬物輸送
 - 4・2 H^+ / 有機カチオンキャリアーの分子特性
 - 4・3 アニオン性薬物輸送
 - 4・4 アミノ- β -ラクタム抗生物質(両性イオン)輸送

5. 小腸における薬物分泌
 6. おわりに
-

1. はじめに

小腸や腎尿細管は、高度に分化した物質輸送能を有し、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。これら組織の上皮細胞では、吸収・分泌という二方向性の経細胞性輸送 (transcellular transport) が営まれている¹⁾。すなわち生体必須成分は小腸や近位尿細管において効率よく吸収され、一方不用の代謝産物や多くの薬物

は近位尿細管において能動的に分泌され尿中に排泄される。

1960年 Crane は²⁾, グルコースの小腸吸収について Na^+ と共役した能動輸送仮説を提唱した。さらに 1973 年 Hopfer らは³⁾, 小腸刷子縁膜小胞系を用いて Na^+ 勾配に依存したグルコースの能動輸送を示し, Crane の仮説を実証した。それ以後小腸や近位尿細管の上皮細胞には, アミノ酸, 水溶性ビタミン, リンなど Na^+ と連結した種々の輸送系が存在することが明らかにされた^{4, 5)}。現在, 小腸や腎尿細管における物質輸送研究の中では, 刷子縁膜の Na^+ /グルコース共輸送系の解析がもっとも進んでおり, 輸送のエネルギー共役機構, キャリアーの単離・同定やモノクローナル抗体の作成, 能動輸送系の再構成などについて多くの報告がみられる⁶⁻⁸⁾。さらに最近, Wright のグループは小腸粘膜から部分精製した mRNA をアフリカツメガエルの卵母細胞に注入し, Na^+ 依存性グルコース輸送活性を発現させることに成功し⁹⁾, またこのグルコースキャリアーの一次構造を決定している¹⁰⁾。

薬物の腸管吸収や尿管分泌は, 薬物生体内動態を支配する重要な過程である。小腸内の薬物は, 一般に受動拡散によって上皮細胞を透過するが, その速度は薬物のイオン化の程度と薬物分子の脂溶性によって決まることが多い (pH 分配仮説)。しかし, 経口用アミノ- β -ラクタム抗生物質のように, 生理的 pH でイオン化し低脂溶性であるにもかかわらず良好に吸収される薬物もあり, キャリアー輸送の関与が指摘されてきた¹¹⁾。一方腎臓では, イオン性薬物の多くが尿管上皮細胞を介して能動的に分泌される¹²⁾。従来, 薬物の吸収・分泌に関す

る研究は, 個体や組織レベルでの各種実験法を用いて進められてきたが¹³⁾, 糖やアミノ酸など生体成分の輸送機構解明に貢献してきた生化学的・生理学的手法の導入によって, 薬物の能動輸送機構についても数多くの新しい知見が集積されつつある¹⁴⁾。本稿では, 小腸と腎尿細管における薬物のキャリアー輸送とそのエネルギー共役に関する最近の研究動向を紹介し, 薬物の吸収・分泌機構について概説したい。

2. 膜輸送形式

一般に動物細胞膜における輸送系の種類とエネルギー供給については, Fig. 1 の模式図のように分類されている。膜内外の濃度差に従って基質が輸送される場合を受動輸送 (passive transport) または拡散 (diffusion) と呼ぶ。単純拡散 (simple diffusion) では, 基質の分子サイズ, イオン化の程度, 脂溶性によって輸送速度が決まるが, 促進拡散 (facilitated diffusion) では細胞膜に存在する特異的なキャリアーによって媒介され基質選択性が認められる。線維芽細胞や赤血球のグルコース輸送, 小腸・尿管上皮細胞側底膜におけるグルコース輸送などが促進拡散にあたる。一方, 基質濃度に逆らって輸送される場合を能動輸送 (active transport) と呼ぶが, これはエネルギー供給の方法によってさらに二つに分類される。ATP の加水分解エネルギーを直接利用して輸送が行われる場合を一次性能動輸送と呼び, 上皮細胞側底膜の Na^+ ポンプ ($(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - \text{ATPase}$) や刷子縁膜の H^+ ポンプがこれに相当する。一次性能動輸送によって形成された Na^+ や H^+ の電気化学的ポテンシャル差をエネルギー源として, 基質の能動輸送が行われる

輸送系の種類	担体	エネルギー供給
受動輸送		
1) 単純拡散	なし	なし
2) 促進拡散	あり	なし
能動輸送		
1) 一次性能動輸送	あり	あり
2) 二次性能動輸送	あり	あり
a) 共輸送		
b) 逆輸送

Fig. 1 輸送系の種類とエネルギー供給

場合を二次性能動輸送というが、エネルギー源となる溶質の流れの方向と輸送基質の方向が同じ場合を共輸送(cotransport)、逆方向の場合を逆輸送または対向輸送(antiport)という。共輸送の例としては、上皮細胞刷子縁膜の Na^+ /グルコース輸送^{5, 6)}、 Na^+ /中性アミノ酸輸送⁴⁾、 H^+ /ジペプチド輸送¹⁵⁻¹⁷⁾、 H^+ /葉酸輸送¹⁸⁾など生体成分の吸収に関与するキャリアーの多くがこれに相当する。対向輸送は、小腸・尿管管刷子縁膜の Na^+ / H^+ 輸送や尿管管刷子縁膜の H^+ /有機カチオン輸送など分泌過程に関連したキャリアーに見られる。

3. 薬物吸収

小腸と近位尿管管における生体成分の吸収機序はさわめて類似している。すなわち、両組織の刷子縁膜には種々の基質に対する特異的なキャリアーが局在し、グルコース、アミノ酸、リンなどは各々 Na^+ と共役し⁴⁻⁶⁾、またジペプチドは H^+ と共役して能動輸送される¹⁵⁻¹⁷⁾。これに対して、異物である医薬品を積極的に体内に取り

込む機構は、元来生体には備わっていないはずである。しかし、薬物の物理化学的性状が生体成分のそれと類似しているために、生体成分のキャリアーによって認識され、能動輸送される場合がある。ジペプチドのキャリアーが、薬物輸送にも重要な役割を果たしていることが最近の研究によって明らかにされてきた。

3.1 ジペプチドおよび β -ラクタム抗生物質の輸送

小腸や尿管管上皮細胞の刷子縁膜には、ジペプチド、トリペプチドに対するキャリアーが存在する。この輸送系は、アミノ酸とは別の独立した輸送系であり、駆動力も Na^+ 勾配ではなく、管腔側酸性の H^+ 勾配であるなどきわめて特徴的である¹⁵⁻¹⁷⁾。LeibachやHoshiらは、刷子縁膜小胞系を用いてジペプチド輸送について詳細に解析し、このキャリアーが内向きの H^+ 勾配によって駆動される起電性の H^+ /ジペプチド共輸送系であることを明らかにした^{19, 20)}。 H^+ /ジペプチド共輸送の stoichiometry は2:1とされている。また最近 *in vivo* microperfusion 法によっても、ジペプチド輸送が管腔側酸

	R_1	R_2	Administration Route
CEPHALEXIN		$-\text{CH}_3$	Oral
CEPHRADINE		$-\text{CH}_3$	
CEFACLOR		$-\text{Cl}$	
CEFAUROXIL		$-\text{CH}_3$	
CEFAZOLIN			Parenteral
CEFOTIAM			
CEFIXIME		$-\text{CH}=\text{CH}_2$	Oral

Fig. 2 β -ラクタム抗生物質の構造

性の pH によって支配され、 H^+ 勾配によって促進されることが確認された²¹⁾。さらに *in vitro* 単離尿管灌流法によって、加水分解抵抗性のジペプチド glycylsarcosine は管腔側から細胞内へ能動的に取り込まれた後、上皮細胞内において構成アミノ酸に分解されることが示された²²⁾。グルコースやアミノ酸のキャリアーは基質認識能が比較的厳格であるが、ジペプチドキャリアーはブロードな親和性パターンを示し多種類のジペプチド、トリペプチドをほぼ同じ親和性で輸送すると考えられている。

現在臨床的に繁用されている経口用アミノ- β -ラクタム抗生物質は、生理的 pH でイオン化し低脂溶性であるにもかかわらず良好に腸管吸収されるために、その腸管吸収機構に興味をもたれてきた¹¹⁾。cephalexin, cephradine, cefaclor, cefadroxil などのアミノ- β -ラクタム抗生物質は、アミノ基とカルボキシル基を持ち生理的 pH で両性イオンとして存在するため、アミノ酸やジペプチドと類似した物理化学的性質を示す (Fig. 2)。小腸刷子縁

膜小胞を用いて輸送特性を解析したところ、これら両性イオン型アミノ- β -ラクタム抗生物質の取り込み速度は、アニオン型の β -ラクタム抗生物質 (cefazolin, cefotiam) に比べて大きく、取り込みには濃度依存性が認められた²³⁾。またジペプチドによる取り込み阻害や counter-transport 効果が認められることから、小腸刷子縁膜においてアミノ- β -ラクタム抗生物質はジペプチドと共通のキャリアーを介して輸送されることが示唆された。さらに小胞内 pH 7.5, 外 pH 6.0 の条件下で内向きの H^+ 勾配を与えた場合に cephradine の取り込みが促進され、一時的な上り坂輸送いわゆる overshoot 現象が認められた。この促進効果は、小胞内負の膜電位を与えた場合、あるいは小胞内外の Δ pH が大きくなるにつれて増強され、一方プロトノフォア FCCP (carbonylcyanide *p*-trifluoromethoxyphenylhydrazone) によって著しく抑制された (Fig. 3)²⁴⁾。他のアミノ- β -ラクタム抗生物質の取り込み速度も、内向きの H^+ 勾配によって顕著に促進されたが、cefazolin, cefotiam では H^+ 勾配の影響

Fig. 3 小腸刷子縁膜小胞の cephradine 取り込みにおよぼす H^+ 勾配とプロトノフォア (FCCP) の影響²⁴⁾

響は認められなかった。また種々の β -ラクタム抗生物質について、 H^+ 勾配存在下での刷子縁膜小胞による取り込み速度と小腸からの吸収速度との関係を検討したところ、両者の間にはきわめて良好な相関性が認められた²⁵⁾。

以上の結果より、アミノ- β -ラクタム抗生物質は、小腸刷子縁膜においてジペプチド輸送系を介して輸送され、これは H^+ 勾配を駆動力とする起電性の共輸送系であることが判明した。小腸組織を用いた実験系では、ジペプチドならびにアミノ- β -ラクタム抗生物質の輸送が Na^+ 依存性であるという報告も見られた。しかしこれは刷子縁膜に局在する Na^+/H^+ 対向輸送系と連結した現象で、直接の駆動力は管腔側酸性の内向き H^+ 勾配であると結論できる (Fig. 4)。このように、従来から virtual pH²⁶⁾あるいは microclimate pH (pH 5.5~6.0)²⁷⁾と呼ばれてきた小腸粘膜近傍の酸性 pH (内向きの H^+ 勾配)は、アミノ- β -ラクタム抗生物質吸収の駆動力として重要な役割を果たしていると考えられる。

また、アミノ基を持たず二つのカルボキシル基を有する新規経口用 β -ラクタム抗生物質 cefixime (Fig. 2)もジペプチドと共通の輸送系を介して輸送されることが明らかになった^{28, 29)}。しかし刷子縁膜における cefixime と cephradine の輸送は、pH 依存性が全く異なっており、

cefixime は pH 5においてジペプチドキャリアーを介して輸送されるが pH 7.5では輸送されないこと、cephradine はいずれの pH でもジペプチドキャリアーを介して輸送されることが示された。したがって至適 pH の異なる二種類のジペプチド輸送系 (Type I, 中性; Type II, 酸性) の存在が推察された (Fig. 4)²⁹⁾。なおジペプチドを基質とした輸送研究からも、ジペプチドキャリアーの多様性が示唆されているが、詳細は不明である。

3.2 ジペプチドおよび β -ラクタム抗生物質キャリアーの分子特性

小腸刷子縁膜をヒスチジン残基修飾試薬 diethylpyrocarbonate で処理すると、cephradine 輸送の著しい減少が認められ、またこの時 K_m は変化せず V_{max} が低下することがわかった³⁰⁾。他の H^+ と共役する輸送系の場合と同様に、 H^+ /アミノ- β -ラクタム抗生物質 (ジペプチド) 共輸送系においてもヒスチジン残基が重要な役割を果たしているものと推察される^{31, 32)}。

ここに述べた β -ラクタム抗生物質は、刷子縁膜の加水分解酵素に対して強い抵抗性を示すので膜輸送の研究には好都合であり、ジペプチド輸送系解析の probe としても有用である。最近 Kramer らは^{33, 34)}、photo-affinity ラベリング法によってジペプチドキャリアーの同定を行っている。すなわち cephalixin や glycyl-L-

Fig. 4 小腸上皮細胞における β -ラクタム抗生物質の輸送機構^{14, 29)}

proline を N-(4-azido-[3,5- ^3H] benzoyl) の誘導体として小腸刷子縁膜のラベリングを行ったところ、分子量 127 KDa, 100KDa, 94KDa, 86KDa のポリペプチドと共有結合した放射活性が検出された (Fig. 5)³³⁾. 特に 127 KDa のポリペプチドが主としてラベルされ、またこれは β -ラクタム抗生物質やジペプチドによって阻害されたが、グルコース、アミノ酸、タウロコール酸などではラベリングパターンは変化しなかった。これらの結果より、分子量 127 KDa のポリペプチドがジペプチドや β -ラクタム抗生物質と相互作用を示し、キャリアーの蛋白の成分として機能している可能性が示唆された。

一方、腎尿細管刷子縁膜についても同様に検討し、分子量 130 KDa, 95 KDa のポリペプチドがラベルされることが示された³⁴⁾。腎尿細管刷子縁膜と小腸刷子縁膜のジペプチドキャリアーは、基本的に類似しているもののキャリアーの多様性が推察され、今後の詳細な解析が待たれる。

Fig. 5 N-(4-azidobenzoyl)cephalexinによる小腸刷子縁膜の photoaffinity ラベリング³³⁾ cefadroxil の共存条件: 0 μM (A), 25 μM (B), 100 μM (C), 250 μM (D)

4. 腎尿細管における薬物分泌

腎臓はネフロンと呼ばれる構造・機能上の単位と血管系から構成され、ネフロンは腎小体とそれに続く尿細管から成っている。特に近位尿細管では、アニオン性およびカチオン性薬物が別々の輸送系を介して尿中に能動分泌されることが古くから知られている¹²⁾。尿細管での分泌過程は、上皮細胞の側底膜を介する血管側から細胞内への取り込みと、刷子縁膜を介する細胞内から管腔への放出という二段階の膜輸送によって進行する。

4.1 カチオン性薬物輸送

代表的有機カチオンとして tetraethylammonium (TEA)³⁵⁻³⁸⁾, N¹-methylnicotinamide³⁹⁻⁴¹⁾ を用い、近位尿細管における分泌機構の解析が進められている。刷子縁膜、側底膜小胞による TEA 輸送には、濃度依存性、countertransport 効果が認められ、Arrhenius plot も不連続であることから、両細胞膜においてキャリアー輸送が関与していると考えられた。側底膜における TEA 輸送の駆動力は、小胞内負の膜電位であることが示された。一方、刷子縁膜小胞による TEA の取り込みは、小胞内 pH 6.0, 外 pH 7.5 で外向きの H⁺ 勾配を与えた場合に顕著に促進され overshoot 現象が認められた (Fig. 6)³⁵⁾。また H⁺ 勾配による取り込み促進効果はプロトノフォア FCCP によって完全に消失した。したがって刷子縁膜における TEA 輸送は、基質と逆方向の H⁺ 勾配によって駆動されると考えられる (H⁺/有機カチオン対向輸送系)。Hsyu らは⁴²⁾ pH 感受性の蛍光色素 acridine orange を用いた蛍光消光法によって TEA の輸送に伴う H⁺ の逆輸送を直接証明している。すなわち緩衝能の小さい条件下 (0.1 mM Hepes buffer) において、刷子縁膜小胞からの H⁺ の efflux は、内向きの TEA 勾配によって増加し、またこの efflux は飽和現象を示した (Fig. 7)。

以上より、尿細管上皮細胞における有機カチオン輸送機構は次のように考えられる (Fig. 8)³⁵⁾。血液中に存在する有機カチオンは側底膜に局在するキャリアーを介して細胞内へ輸送されるが、この過程は細胞内負の膜電位によって駆動される。さらに細胞内の有機カチオンは、刷子縁膜において H⁺/TEA 対向輸送系を介し、管腔側酸性の H⁺ 勾配によって駆動され能動的に管腔内へ分泌される。消化性潰瘍治療剤 cimetidine は、両細胞膜において TEA と同様に有機カチオン輸送系を介して輸送されることが明らかにされている⁴³⁻⁴⁵⁾。なお管腔側酸性の H⁺ 勾配は刷子縁膜に局在する Na⁺/H⁺ 対向輸送

Fig. 6 腎刷子縁膜 (BBM) と側底膜 (BLM) 小胞の tetraethylammonium (TEA) 取り込みにおよぼす H^+ 勾配の影響^{3,5)}

Fig. 7 pH 6.0 buffer に懸濁した腎刷子縁膜小胞を acridine orange 溶液 (pH 7.5) に加えた時の蛍光変化^{4,2)}
外液中に Na^+ あるいは TEA を添加 (矢印) することによって H^+ の流出が起こり、蛍光消光が回復する。

系や H^+ ポンプによって維持されているが、これについては既に多数の報告がある^{46, 47)}。

さらに、培養腎上皮細胞系による膜輸送研究も進めら

れている。特にブタ腎臓由来の LLC-PK₁ 細胞は、近位尿細管の機能を保持していることから有機イオン輸送の検討が試みられ興味ある知見が得られている。培養腎

Fig. 8 近位尿細管上皮細胞における有機カチオンの輸送機構^{14, 35)}

上皮細胞の頂側膜（刷子縁膜に相当）にも H^+ /有機カチオン対向輸送系が存在すること⁴⁸⁾，また多孔性フィルター上に培養した単層 LLC-PK₁細胞を用いた実験系においても，TEA の basal 側から apical 側への一方向性輸送が認められた⁴⁹⁾．confluent の LLC-PK₁細胞は極性を保持していることから，フィルター上の単層 LLC-PK₁細胞系は，グルコースやアミノ酸のみならず有機イオンの経細胞性輸送を解析する上で有用な実験系であると考えられる。

4.2 H^+ /有機カチオンキャリアーの分子特性

刷子縁膜に局在する H^+ /有機カチオン対向輸送系の分布は近位尿細管の部位 (S 1, S 2, S 3) によって異なっている．すなわち S 1, S 2 部に富んだ刷子縁膜小胞と，S 3部に富んだ刷子縁膜小胞による TEA 輸送を比較すると K_m は同程度であるが， V_{max} については S 1, S 2 部の方が，2 倍程度大きいと報告されている⁵⁰⁾．

H^+ /有機カチオン対向輸送系の pH 感受性は，有機アニオンやグルコース輸送系に比べきわめて高いことが指摘されている．すなわち H^+ 勾配非存在下での TEA 取り込みにおよぼす pH の影響について検討したところ，30 分間の TEA 取り込み（平衡値）には差が認められなかったが，TEA の初期取り込みは pH 7 付近で最大

となった (Fig. 9)⁵¹⁾．pH による輸送活性変化は可逆的であり，酸性領域では K_m が上昇し，アルカリ性領域では V_{max} が低下することが明らかになった．したがって刷子縁膜における H^+ /有機カチオン対向輸送系の活性調節には，駆動力である H^+ 勾配のみならず，膜内外の pH が密接に関連しており，中性 pH 領域が至適であると考えられる。

さらに種々の膜蛋白修飾試薬を用いて H^+ /有機カチオン対向輸送系の特性が調べられている．TEA 輸送系は有機アニオンやグルコース輸送系に比べて SH 阻害剤に対する感受性がきわめて高く，輸送キャリアー分子中の SH 基の重要性が示唆された⁵²⁾．また PCMBs で前処理した刷子縁膜小胞を dithiothreitol, glutathione, cysteine で処理することによって，TEA 輸送能はほぼ完全に回復した．尿細管上皮細胞では glutathione が合成され管腔内に分泌されることから，生理的条件下では glutathione やその構成アミノ酸 cysteine が，有機カチオン輸送キャリアーの SH 基保護に役割を果たしているものと推察される^{52, 53)}．

ヒスチジン残基修飾試薬 diethylpyrocarbonate で刷子縁膜を処理した場合，有機アニオン輸送には影響が認められなかったが，TEA 輸送は著しく阻害された⁵⁴⁾．

Fig. 9 腎刷子縁膜小胞による tetraethylammonium 取り込みの pH 依存性⁵¹⁾

また、ヒスチジン残基は有機カチオンの結合部位としてよりも、 H^+ /有機カチオン対向輸送系の調節部位として関与していることを示す結果も得られている。さらに、刷子縁膜の有機カチオン輸送は、チロシン残基修飾試薬 N-acetylimidazole 処理⁵⁵⁾ やカルボキシル基修飾試薬 N, N'-dicyclohexylcarbodiimide 処理⁵⁶⁾ によって阻害されたことから、両基が有機カチオンキャリアの官能基として輸送活性の調節に関与しているという報告がなされている。このように、刷子縁膜における H^+ /有機カチオン対向輸送系の解析が、現在種々のグループによって精力的に進められている。

4.3 アニオン性薬物輸送

1923 年 Marshall らは phenolsulfonphthalein を用いて、尿細管における有機イオン分泌について最初に報告した。それ以後、*p*-aminohippurate (PAH) をはじめとする有機アニオンの尿細管能動分泌は、*in vivo* クリアランス法、*in vitro* 腎皮質切片への取り込み実験法、摘出腎灌流法、単離尿細管灌流法など種々の実験系によって研究が進められてきた⁵⁷⁾。最近では、側底膜および刷子縁膜小胞による輸送研究も多数報告されてい

るが、有機カチオンの場合ほど輸送機構は明確ではない。

側底膜における PAH 輸送は飽和現象を示し、また countertransport 効果による促進効果が見られるなどキャリアー輸送系の存在が確認されている⁵⁸⁾。側底膜での PAH 輸送キャリアの駆動力や調節因子については、現在多数のグループによって論争がなされている。Kasher らは⁵⁹⁾ Na^+ 勾配に依存した PAH/アニオン交換輸送系が関与すること、また Eveloff も⁶⁰⁾ Na^+ 勾配に依存した PAH/ OH^- 交換輸送について述べている。Shimada らは⁶¹⁾ Na^+ 勾配存在下において $10 \mu M$ glutarate (ジカルボン酸) が PAH 取り込みを促進し overshoot 現象を示すことを報告している (Fig. 10)。彼らはジカルボン酸が Na^+ 勾配によって小胞内に取り込まれ、さらにジカルボン酸が $[^3H]$ PAH と対向輸送されるモデルを提唱し、ジカルボン酸が内因性アニオンとして PAH 輸送に関与することを示唆している。筆者らは、無機アニオンとして Cl^- (100 mM, 小胞内外平衡) が存在する場合に、側底膜における PAH 交換輸送能が増大するという知見を得ているが、PAH の細胞内への移行に際し、生理的濃度の Cl^- が調節因子として関与し

Fig. 10 Na^+ , glutarate 存在下における腎側底膜の $[^3\text{H}]p$ -aminohippurate 取り込み⁶¹⁾

Fig. 11 近位尿管上皮細胞の側底膜における p -aminohippurate (PAH) の輸送機構⁶³⁾ (A) $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - \text{ATPase}$; (B) Na^+ 共役アニオン輸送; (C) PAH / アニオン交換輸送 (Cl^- による促進, STIS および probenecid による阻害)

ている可能性が推察される⁶²⁾. このように未だ統一見解は得られていないが、側底膜における PAH の交換輸送とエネルギー共役機構を説明するモデルとして Pritchard の模式図を Fig. 11 に示す⁶³⁾.

一方、刷子縁膜での PAH 輸送は countertransport 効果を認めなかったものの、アニオン輸送阻害剤である probenecid, DIDS (4, 4'-diisothiocyano-2, 2'-disul-

fonic stilbene)によって阻害されたことから、単純拡散のみでは説明できない。刷子縁膜における PAH 輸送は、側底膜に比べより強く膜電位の影響を受けることから、細胞内 PAH の管腔への移行は、相対的に正の膜電位 (細胞内負) が PAH 輸送の駆動力として働くものと考えられる⁵⁸⁾. しかし刷子縁膜の PAH 輸送は、アニオン交換輸送によって起こり、このキャリアーはブロードな特異性を持ち HCO_3^- , OH^- , Cl^- などの無機アニオンおよび尿酸などの有機アニオンを輸送し得るという報告もある⁶⁴⁻⁶⁶⁾. この様に有機アニオン輸送系の解析についてはなお多くの問題点が残されているが、これらの原因としては、種差、膜小胞調製法の相違、輸送系の多様性などが挙げられる。

4.4 アミノ- β -ラクタム抗生物質(両性イオン)輸送

β -ラクタム抗生物質 (Fig. 2) は、主として腎臓に移行し排泄される。これらの薬物は、糸球体濾過ならびに尿管アニオン輸送系での能動分泌によって尿中排泄されることが、*in vivo* 腎クリアランス実験⁶⁷⁾ や腎皮質切片への取り込み実験⁶⁸⁾ によって明らかにされてきた。しかし膜小胞による輸送実験から、cephalexin などのアミノ基とカルボキシル基を有する両性イオン型薬物は刷子縁膜においてアニオン輸送系だけでなく⁶⁹⁾、カチオン輸送系をも介して分泌されることが見出されている⁷⁰⁾.

cephalexin, cephradine などアミノ- β -ラクタム抗生物質の刷子縁膜小胞による取り込みは、probenecid や PAH 共存によって阻害されアニオン輸送系の関与が

示唆されたが、飽和現象や countertransport 効果も見られることから、PAH 輸送の場合とは異なりキャリアー輸送系が関与していると考えられた⁶⁹⁾。また刷子縁膜小胞による cephalixin の取り込みは、有機カチオン類によっても阻害され、逆に TEA の取り込みは cephalixin によって阻害された。アミノ基を持たず、生理的 pH でアニオンとして存在する cefazolin (注射用) の場合には、カチオン性薬物との相互作用は認められない。cephalexin を負荷した刷子縁膜小胞では TEA の取り込みが対照に比べて促進され、countertransport 効果が認められた。さらに cephalixin の取り込みは、TEA の場合と同様に刷子縁膜小胞内 pH 6.0、小胞外 pH 7.5 の外向きの H^+ 勾配存在下で顕著に促進された⁷⁰⁾。従来、cephalexin はアニオン輸送系を介して尿細管分泌されると考えられていたが、以上の結果から、刷子縁膜においてアニオン輸送系のみならず H^+ /有機カチオン対向輸送系をも介することが明確となった。このようにアミノ- β -ラクタム抗生物質が尿細管刷子縁膜において有機カチオン輸送系 (H^+ 対向輸送)⁷⁰⁾ とジペプチド輸送系 (H^+ 共輸送)⁷¹⁾ という機能の異なった二

種の H^+ 共役輸送系を介し得ることは基質認識能を考える上できわめて興味深い。しかし尿細管刷子縁膜では有機カチオン輸送系が強力であるために、 H^+ との共輸送現象は検出しにくい。

5. 小腸における薬物分泌

小腸における薬物分泌は腎尿細管に比べ量的に少ないが、一部の薬物では上皮細胞を介して血中から管腔内に分泌されることが知られている。Lauterbach は⁷²⁾ N-methyl scopolamine などの四級アンモニウム化合物が、小腸管腔内に能動分泌されること、この過程は濃度依存性を示しエネルギー系が関与することを明らかにしている。最近 Miyamoto らは⁷³⁾ 小腸刷子縁膜小胞系で guanidine が逆向きの H^+ 勾配によって輸送されることを示し、 H^+ /有機カチオン対向輸送系の存在を明らかにした (Fig. 12)。しかし、TEA, cimetidine, N¹-methylnicotinamide などが基質にならないことから、この輸送系は腎尿細管の H^+ /有機カチオン対向輸送系とは異なっていると結論されている。両組織の輸送系は、カチオンキャリアーの分子特性を解析するうえで興味深い。

6. おわりに

小腸や腎尿細管における薬物の吸収・分泌に関する研究は、細胞膜レベルからのアプローチによって新しい展開を迎えている。数年前までは薬物・有機イオン類の膜輸送に関する論文は、生体成分の輸送研究に比べて非常に少なかったにもかかわらず、最近では薬理学・生理学・生化学の雑誌に多数掲載されるようになってきた。これにともなって、有機アニオンやカチオンが尿細管上皮細胞においてイオンの電気化学的勾配、膜電位と巧妙に共役して能動分泌される機構、経口用アミノ- β -ラクタム抗生物質がジペプチドのキャリアーによって認識され能動的に吸収される機構等が次々と明らかにされてきた。その他、脳の脈絡叢においても薬物の能動分泌機構の解析が進んでいる⁷⁴⁾。また、抗癌剤耐性細胞における抗癌剤の能動的排出機構については、排出ポンプとしての機能をもつ p-glycoprotein の構造・機能に関する研究が遺伝子レベルからなされるなど抗癌剤耐性機構とその克服に著しい進展が見られる⁷⁵⁾。

このように学際的研究領域であるが故にこれまで遅れていた薬物の細胞膜輸送に関する研究は、現在着実に進歩していると思われる。これらの成果は、膜輸送機構に

Fig. 12 小腸刷子縁膜小胞による guanidine, tetraethylammonium (TEA) の取り込み⁷³⁾
小胞内 pH 5.5, 小胞外 pH 7.5
●, guanidine (50 μ M); ○, TEA (50 μ M)

関する基礎的研究のみならず、医薬品開発や薬物療法にもフィードバックされ新たな情報を提供するものであり、今後の発展が期待される。

参考文献

- 1) 星 猛：膜, **10**, 2-12 (1985)
- 2) R. K. Crane : Fed. Proc., **21**, 891-895 (1962)
- 3) U. Hopfer, K. Nelson, J. Perroto, K. J. Isse-lbacher : J. Biol. Chem., **248**, 25-32 (1973)
- 4) B. R. Stevens, J. D. Kaunitz, E. M. Wright : Ann. Rev. Physiol., **46**, 417-433 (1984)
- 5) H. Murer, P. Gmaj : Kidney Int., **30**, 171-186 (1986)
- 6) G. Semenza, M. Kessler, M. Hasang, J. Weber, U. Schmidt : Biochim. Biophys. Acta, **779**, 343-379 (1984)
- 7) M. Neeb, H. Fasold, H. Koepsell : FEBS Letters, **182**, 139-144 (1985)
- 8) J.-S. R. Wu, J. E. Lever : Biochemistry, **26**, 5958-5962 (1987)
- 9) M. A. Hediger, T. S. Ikeda, M. Coady, C. B. Gundersen, E. M. Wright : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **84**, 2634-2637 (1987)
- 10) M. A. Hediger, M. J. Coady, T. S. Ikeda, E. M. Wright : Nature, **330**, 379-381 (1987)
- 11) T. Kimura : Pharmacy International, **5**, 75-79 (1984)
- 12) 堀 了平：“生物薬剤学”(村田敏郎, 有田隆一編) p. 175-202, 南江堂, 東京 (1982)
- 13) 堀 了平, 奥村勝彦：“生物薬剤学実験法”(村田敏郎, 有田隆一編) p. 91-104, 南江堂, 東京 (1984)
- 14) 乾 賢一：薬学雑誌, **108**, 921-937 (1988)
- 15) V. Ganapathy, F. H. Leibach : Am. J. Physiol., **249**, G153-G160 (1985)
- 16) V. Ganapathy, F. H. Leibach : Am. J. Physiol., **251**, F945-F953 (1986)
- 17) T. Hoshi : Jap. J. Physiol., **35**, 179-191 (1985)
- 18) C. M. Schron, C. Washington, Jr., B. L. Blitzer : J. Clin. Invest., **76**, 2030-2033 (1985)
- 19) V. Ganapathy, F. H. Leibach : J. Biol. Chem., **258**, 14189-14192 (1983)
- 20) N. Takuwa, T. Shimada, H. Matsumoto, T. Hoshi : Biochim. Biophys. Acta, **814**, 186-190 (1985)
- 21) S. Silbernagl, V. Ganapathy, F. H. Leibach : Am. J. Physiol., **253**, F448-F457 (1987)
- 22) D. W. Barfuss, V. Ganapathy, F. H. Leibach : Am. J. Physiol., **255**, F177-F181 (1988)
- 23) T. Okano, K. Inui, M. Takano, R. Hori : Biochem. Pharmacol., **35**, 1781-1786 (1986)
- 24) T. Okano, K. Inui, H. Maegawa, M. Takano, R. Hori : J. Biol. Chem., **261**, 14130-14134 (1986)
- 25) R. Hori, T. Okano, M. Kato, H. Maegawa, K. Inui : J. Pharm. Pharmacol., **40**, 646-647 (1988)
- 26) C. A. M. Hogben, D. J. Tocco, B. B. Brodie, L. S. Schanker : J. Pharmacol. Exp. Ther., **125**, 275-282 (1959)
- 27) M. Lucas : Gut, **24**, 734-739 (1983)
- 28) A. Tsuji, T. Terasaki, I. Tamai, H. Hirooka : J. Pharmacol. Exp. Ther., **241**, 594-601 (1987)
- 29) K. Inui, T. Okano, H. Maegawa, M. Kato, M. Takano, R. Hori : J. Pharmacol. Exp. Ther., **247**, 235-241 (1988)
- 30) 加藤みや子, 前川仁志, 岡野友信, 乾 賢一, 堀了平：日本薬学会第108年会講演要旨集, p. 525 (1988)
- 31) Y. Miyamoto, V. Ganapathy, F. H. Leibach : J. Biol. Chem., **261**, 16133-16140 (1986)
- 32) W. Kramer, F. Girbig, E. Petzoldt, I. Leipe : Biochim. Biophys. Acta, **943**, 288-296 (1988)
- 33) W. Kramer : Biochim. Biophys. Acta, **905**, 65-74 (1987)
- 34) W. Kramer, I. Leipe, E. Petzoldt, F. Girbig : Biochim. Biophys. Acta, **939**, 167-172 (1988)
- 35) M. Takano, K. Inui, T. Okano, H. Saito, R. Hori : Biochim. Biophys. Acta, **773**, 113-124 (1984)
- 36) R. Hori, M. Takano, T. Okano, K. Inui : J. Pharmacol. Exp. Ther., **233**, 776-781 (1985)
- 37) S. H. Wright, T. M. Wunz : Am. J. Physiol., **253**, F1040-F1050 (1987)
- 38) C. Rafizadeh, F. Roch-Ramel, C. Schäli : J. Pharmacol. Exp. Ther., **240**, 308-313 (1987)
- 39) P. D. Holohan, C. R. Ross : J. Pharmacol. Exp. Ther., **216**, 294-298 (1981)
- 40) P. P. Sokol, P. D. Holohan, C. R. Ross : J. Pharmacol. Exp. Ther., **233**, 694-699 (1985)
- 41) S. H. Wright : Am. J. Physiol., **249**, F903-F911 (1985)
- 42) P.-H. Hsyu, K. M. Giacomini : J. Biol. Chem., **262**, 3964-3968 (1987)
- 43) M. Takano, K. Inui, T. Okano, R. Hori : Life Sci., **37**, 1579-1585 (1985)
- 44) L. Gislén, F. M. Wong, K. M. Giacomini : Am. J. Physiol., **253**, F141-F150 (1987)
- 45) T. D. McKinney, M. E. Kunneemann : Am. J. Physiol., **252**, F525-F535 (1987)
- 46) D. G. Warnock, W. W. Reenstra, V. J. Yee : Am. J. Physiol., **242**, F733-F739 (1982)
- 47) P. Igarashi, P. S. Aronson : J. Biol. Chem., **262**, 860-868 (1987)
- 48) K. Inui, H. Saito, R. Hori : Biochem. J., **227**, 199-203 (1985)
- 49) C. Fauth, B. Rossier, F. Roch-Ramel : Am. J. Physiol., **254**, F351-F357 (1988)
- 50) C. Montrose-Rafizadeh, F. Roch-Ramel, C. Schäli : Biochim. Biophys. Acta, **904**, 175-177 (1987)

- 51) H. Maegawa, M. Kato, K. Inui, R. Hori : J. Biol. Chem., **263**, 11150-11154 (1988)
- 52) R. Hori, H. Maegawa, T. Okano, M. Takano, K. Inui : J. Pharmacol. Exp. Ther., **241**, 1010-1016 (1987)
- 53) P. P. Sokol, P. D. Holohan, C. R. Ross : J. Biol. Chem., **261**, 3282-3287 (1986)
- 54) H. Maegawa, M. Kato, K. Inui, R. Hori : submitted
- 55) P.-H. Hsyu, K. M. Giacomini : Am. J. Physiol., **252**, F1065-F1072 (1987)
- 56) P. P. Sokol, P. D. Holohan, C. R. Ross : J. Pharmacol. Exp. Ther., **243**, 455-459 (1987)
- 57) J. M. Irish III, J. J. Grantham, "The Kidney" (B. M. Brenner, F. C. Rector, Jr., W. B., ed.) p. 619-649, W. B. Saunders Co., Philadelphia (1981)
- 58) R. Hori, M. Takano, T. Okano, S. Kitazawa, K. Inui : Biochim. Biophys. Acta, **692**, 97-100 (1982)
- 59) J. S. Kasher, P. D. Holohan, C. R. Ross : J. Pharmacol. Exp. Ther., **227**, 122-129 (1983)
- 60) J. Eveloff : Biochim. Biophys. Acta, **897**, 474-480 (1987)
- 61) H. Shimada, B. Moewes, G. Burckhardt : Am. J. Physiol., **253**, F795-801 (1987)
- 62) K. Inui, M. Takano, T. Okano, R. Hori : Biochim. Biophys. Acta, **855**, 425-428 (1986)
- 63) J. B. Pritchard : Biochim. Biophys. Acta, **906**, 295-308 (1987)
- 64) J. W. Bromstedt, P. S. Aronson : J. Clin. Invest., **65**, 931-934 (1980)
- 65) P. P. Sokol, P. D. Holohan, C. R. Ross : Biochim. Biophys. Acta, **862**, 335-342 (1986)
- 66) P. P. Sokol, P. D. Holohan, C. R. Ross : J. Biol. Chem., **263**, 7118-7123 (1988)
- 67) A. Kamiya, K. Okumura, R. Hori : J. Pharm. Sci., **72**, 440-443 (1983)
- 68) R. Hori, Y. Ishikawa, M. Takano, T. Okano, S. Kitazawa, K. Inui : Biochem. Pharmacol., **31**, 2267-2272 (1982)
- 69) K. Inui, T. Okano, M. Takano, S. Kitazawa, R. Hori : Biochem. Pharmacol., **32**, 621-626 (1983)
- 70) K. Inui, M. Takano, T. Okano, R. Hori : J. Pharmacol. Exp. Ther., **233**, 181-185 (1985)
- 71) K. Inui, T. Okano, M. Takano, H. Saito, R. Hori : Biochim. Biophys. Acta, **769**, 449-454 (1984)
- 72) F. Lauterbach : "Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 70/II" (T. Z. Csaky, ed.) p. 271-299, Springer-Verlag (1984)
- 73) Y. Miyamoto, V. Ganapathy, F. H. Leibach : Am. J. Physiol., **255**, G85-G92 (1988)
- 74) H. Suzuki, Y. Sawada, Y. Sugiyama, T. Iga, M. Hanano : J. Pharmacol. Exp. Ther., **243**, 1147-1152 (1987)
- 75) 鶴尾 隆 : 蛋白質・核酸・酵素, **32**, 1400-1428 (1987)