

Blood-brain barrier functioning as dynamic interface and drug delivery to the brain

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-12-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Tsuji, Akira メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00049358

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



**ダイナミックインターフェイスとしての
血液脳関門機能と薬物脳移行相関**

(課題番号：07457527)

**平成7～8年度科学研究費補助金
(基盤研究(B)(2)) 研究成果報告書**

平成9年3月

研究代表者 辻 彰

(金沢大学薬学部教授)

平成7年度～平成8年度科学研究費補助金（基盤研究(B)(2)）

研究成果報告書

研究課題

ダイナミックインターフェイスとしての血液脳関門機能と薬物脳移行相関

課題番号

07457527

研究組織

研究代表者： 辻 彰（金沢大学薬学部教授）
研究分担者： 玉井 郁巳（金沢大学薬学部助教授）
研究分担者： 崔 吉道（金沢大学薬学部助手）

研究経費

平成7年度	5,100千円
平成8年度	2,600千円
計	7,700千円



3000-55106-3

研究実績の概要

目的：「担体介在輸送・排出」による外因性物質選択的脳移行制御機構がダイナミックインターフェース(DIF)としての血液脳関門(BBB)機能を担っているというBBBの実体に迫る我々の独創的仮説の実証を行うことを目的とした。

結果：

1. ラット脳虚血による脳内ATP量の低下は、 $[^{14}\text{C}]$ sucroseの脳透過係数(PS)に変化を与えず、doxorubicin (DOX)のPSを正常時の17倍に増加させたが、この値は血流再灌流によって回復した。また初代培養ウシ脳毛細血管内皮細胞 (BCECs) 内のATP量の減少に伴って、DOXのBCEC内蓄積量の増大が観測された。以上の結果とこれまでの結果と合わせ、一次性排出ポンプP-糖蛋白質(P-gp)によってDOXなど脂溶性薬物の脳内移行が著しく制限されていることを実証できた。

2. BCECsの血液側膜及び脳側膜からの $[^3\text{H}]$ β -alanineおよび $[^3\text{H}]$ taurineの輸送に対する温度・代謝エネルギー依存性、 Na^+ ・ Cl^- 勾配依存性、ATP枯渇BCECsにおけるカウンタートランスポート効果や各種アミノ酸による阻害様式から、BBBにはtaurineを二次性能動輸送する β -alanine輸送系が存在することを初めて明らかにすることができた。

3. H^+ /モノカルボン酸共輸送系MCT1が、BCECにも発現していることをRT-PCR法によって確認し、その塩基配列が小腸のそれと一致することを認めた。このMCT1が血液脳間のモノカルボン酸化合物交換を制御していると思われる。

4. ペプチドが塩基性と脂溶性のバランスに依存して adsorptive-mediated endocytosis (AME)機構でBCECsに取り込まれることを明らかにした。

結論：薬物の中枢移行性は、分子の脂溶性によって制限されるほかに、BCECに発現する種々の輸送系に対する認識特性に依存し、P-gpによる排出機能によっても制限されるという、DFIとしての新しいBBBの概念を提示することができた。また、本研究により中枢作用型ペプチド医薬品の設計にAME機構を利用する道が開かれた。

研究発表

(1) 学会誌等

原著論文

- T. Terasaki, H. Mizuguchi, C. Itoh, I. Tamai, M. Lemaire and A. Tsuji, Hepatic uptake of octreotide a long-acting somatostatin analogue, via a bile acid transport system, *Pharm. Res.*, **12**, 12-17 (1995).
- I. Tamai, N. Tomizawa, T. Takeuchi, K. Nakayama, H. Higashida and A. Tsuji, Functional expression of transporter for β -lactam antibiotics and dipeptides in *Xenopus laevis* oocytes injected with messenger RNA from human, rat and rabbit small intestines, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **273**, 26-31 (1995).
- *T. Ohnishi, I. Tamai, K. Sakanaka, A. Sakata, T. Yamashima, J. Yamashita and A. Tsuji, In vivo and in vitro evidence for ATP-dependency of P-glycoprotein-mediated efflux of doxorubicin at the blood-brain barrier, *Biochem. Pharmacol.*, **49**, 1541-1544 (1995).
- T. Minagawa, Y. Kohno, T. Suwa and A. Tsuji, Species differences in hydrolysis of isocarboxycin methyl ester (TEI-9090) by blood esterases, *Biochem. Pharmacol.*, **49**, 1361-1366 (1995).
- I. Tamai, H. Takanaga, H. Maeda, Y. Sai, T. Ogihara, H. Higashida and A. Tsuji, Participation of a proton-cotransporter, MCT1, in the intestinal transport of monocarboxylic acids, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 482-489 (1995).
- I. Tamai, H. Takanaga, H. Maeda, T. Ogihara, M. Yoneda and A. Tsuji, Proton-cotransport of pravastatin across intestinal brush-border membrane, *Pharm. Res.*, **12**, 1727-1732 (1995).
- *I. Tamai, M. Senmaru, J. Komura, T. Terasaki and A. Tsuji, Na⁺ and Cl⁻-dependent transport of taurine at blood-brain barrier, *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 1783-1793 (1995).
- *H. Takanaga, I. Tamai, S. Ianaba, Y. Sai, H. Higashida, H. Yamamoto and A. Tsuji, cDNA cloning and functional characterization of rat intestinal monocarboxylate transporter, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **217**, 370-377 (1995).
- E. Nakashima, R. Matsushita, T. Ohshima, A. Tsuji and F. Ichimura, Quantitative relationship between structure and peritoneal membrane transport based on physiological pharmacokinetic concepts for acidic drugs, *Drug Metab. Dispos.*, **23**, 1220-1224 (1995).
- K. Miyamoto, T. Shiraga, K. Morita, H. Yamamoto, H. Haga, Y. Taketani, I. Tamai, Y. Sai, A. Tsuji and E. Takeda, Sequence, tissue distribution and developmental changes in rat intestinal oligopeptide transporter, *Biochim. Biophys. Acta*, **1305**, 34-38 (1996).
- Y. Sai, I. Tamai, H. Sumikawa, K. Hayashi, T. Nakanishi, O. Amano, M. Numata, S. Iseki, and A. Tsuji, Immunolocalization and pharmacological relevance of oligopeptide transporter

PepT1 in intestinal absorption of β -lactam antibiotics, *FEBS Lett.*, **392**, 25-29 (1996).

*T. Terao, E. Hisanaga, Y. Sai, I. Tamai, and A. Tsuji, Active secretion of drugs from the small intestinal epitheliums in rats by P-glycoprotein functioning as an absorption barrier. *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 522-525 (1996).

*J. Komura, I. Tamai, M. Senmaru, T. Terasaki, Y. Sai, and A. Tsuji, Sodium and chloride ion-dependent transport of β -alanine across the blood-brain barrier. *J. Neurochem.*, **67**, 330-335 (1996).

H. Takanaga, H. Maeda, H. Yabuuchi, I. Tamai, H. Higashida, and A. Tsuji, Nicotinic acid transport mediated by pH-dependent anion antiporter and proton cotransporter in rabbit intestinal brush-border membrane. *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 1073-1077 (1996).

T. Ogihara, I. Tamai, H. Takanaga, Y. Sai, and A. Tsuji, Stereoselective and carrier-mediated transport of monocarboxylic acids across Caco-2 cells. *Pharm. Res.*, **13**, 1828-1832 (1996).

T. Yamada, M. Kitayama, M. Yamazaki, O. Nagata, I. Tamai, and A. Tsuji, Physicochemical properties of calcium polycarbophil, a water-absorbing polymer, *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 665-668 (1996).

*T. Minagawa, K. Sakanaka, S. Inaba, Y. Sai, I. Tamai, T. Suwa, and A. Tsuji, Blood-brain barrier transport of lipid microspheres containing clinprost, a prostaglandin I₂ analogue, *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 1016-1022 (1996).

I. Tamai, H. Takanaga, H. Maeda, H. Yabuuchi, Y. Sai, Y. Suzuki, and A. Tsuji, Intestinal brush-border membrane transport of monocarboxylic acids mediated by proton-coupled transport and anion antiport mechanisms. *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**, 108-112 (1996).

*I. Tamai, Y. Sai, H. Kobayashi, M. Kamata, T. Wakamiya, and A. Tsuji, Structure-internalization relationship for adsorptive-mediated endocytosis of basic peptides at the blood-brain barrier, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **280**, 410-415 (1997).

総説

*玉井郁巳、辻 彰、ジペプチドトランスポーターと医薬品の消化吸収、*ファルマシア*、**11**、493-497 (1995).

*辻 彰、薬物相互作用—P糖蛋白質、*ファルマシア*、**31**、997-1001 (1995).

*掛江敦之、寺崎哲也、北澤健生、辻 彰、杉山雄一、血液脳関門—静的障壁からダイナミック・インターフェースへ—脳へのドラッグデリバリーの最近の進歩-その4-、*ファームテクジャパン*、**11**、1321-1333 (1995).

*掛江敦之、寺崎哲也、北澤健生、辻 彰、杉山雄一、血液脳関門—静的障壁からダイナミック・インターフェースへ—脳へのドラッグデリバリーの最近の進歩-その5-、*ファームテクジャパン*、

12、19-32 (1996).

*掛江敦之、寺崎哲也、北澤健生、辻 彰、杉山雄一、血液脳関門—静的障壁からダイナミック・インターフェースへ—脳へのドラッグデリバリーの最近の進歩-その6-、*ファームテクジャパン*、**12**、187-196 (1996).

*北澤健生、寺崎哲也、掛江敦之、辻 彰、杉山雄一、血液脳関門—静的障壁からダイナミック・インターフェースへ—脳へのドラッグデリバリーの最近の進歩-その7-、*ファームテクジャパン*、**12**、315-329 (1996).

*辻 彰、ダイナミックインターフェースとしての血液脳関門機能と薬物脳移行相関、*DDS*、**11**、299-308 (1996).

*玉井郁巳、辻 彰、血液脳関門と薬物脳内移行、*医学のあゆみ*、**179**、383-387 (1996).

*玉井郁巳、辻 彰、薬物輸送におけるP-糖蛋白質の役割、*TDM研究*、**13**、217-222 (1996).

*I. Tamai and A. Tsuji, Drug delivery through the blood-brain barrier, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **19**, 401-424 (1996).

H. Sato, Y. Sugiyama, A. Tsuji, and I. Horikoshi, Importance of receptor-mediated endocytosis in peptide delivery and targeting: kinetic aspects, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **19**, 445-467 (1996).

A. Tsuji and I. Tamai, Carrier-mediated intestinal transport of drugs, *Pharm. Res.*, **13**, 963-977 (1996).

*I. Tamai and A. Tsuji, Carrier-mediated approaches for oral drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **20**, 5-32 (1996).

(2) 口頭発表

辻 彰、玉井郁巳、薬物の立体選択的細胞膜輸送とその分子機構、シンポジウム「モレキュラー・キラリティー」—分子間相互作用のメカニズムを探る (東京)、1995年5月18日～19日.

荻原琢男、高長ひとみ、前田 宏、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、モノカルボン酸系化合物の立体選択的細胞膜輸送、シンポジウム「モレキュラー・キラリティー」—分子間相互作用のメカニズムを探る (東京)、1995年5月18日～19日.

A. Tsuji, I. Tamai, M. Senmaru and T. Terasaki, Na⁺ and Cl⁻-dependent transport of taurine at blood-brain barrier, International Taurine Symposium '95, Osaka, June 27-July 1, 1995.

林 喜代美、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、白神俊幸、宮本賢一、武田英二、東田

陽博、第11回日本DDS学会（広島）、1995年7月6日～7日。

高長ひとみ、萩原琢男、前田 宏、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、東田陽博、pH依存的担体輸送系を介したモノカルボン酸系化合物の経口デリバリー：立体選択的輸送特性及び遺伝子発現系を用いた担体輸送系関与の実証、第11回日本DDS学会（広島）、1995年7月6日～7日。

A. Tsuji, Carrier-mediated drug delivery through the blood-brain barrier. In Symposium "Blood-Brain Barrier," 23rd Meeting of the Federation of European Biochemical Societies, Basel, August 13-18, 1995.

A. Tsuji, Carrier-mediated drug delivery through the blood-brain barrier, 23rd Meeting of FEBS, Basel, Switzerland, August 13-18, 1995.

K. Hayashi, Y. Sai, I. Tamai, H. Higashida, T. Shiraga, K. Miyamoto, E. Takeda and A. Tsuji, Cloning and functional characterization of rat intestinal H⁺-coupled oligopeptide transporter, 23rd Meeting of FEBS, Basel, Switzerland, August 13-18, 1995.

寺尾敏光、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、腸管上皮細胞P-糖蛋白質の薬物分泌機能、第54回日本癌学会総会（京都）、1995年10月3日～5日。

林 喜代美、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、白神俊幸、宮本賢一、武田英二、東田陽博、ラット小腸オリゴペプチド輸送担体PepT1はβ-ラクタム抗生物質を輸送するか？第17回薬物と生体膜の相互作用シンポジウム（東京）、1995年10月12日～13日。

高長ひとみ、稲葉真一、前田 宏、萩原琢男、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、東田陽博、モノカルボン酸輸送系MCT1のクローニングと組織分布・機能特性、第17回薬物と生体膜の相互作用シンポジウム（東京）、1995年10月12日～13日。

K. Hayashi, Y. Sai, I. Tamai, H. Higashida, T. Shiraga, K. Miyamoto, E. Takeda and A. Tsuji, Cloning of oligopeptide transporter and hybrid-depletion of intestinal transport of peptide-like drugs. Annual Meeting of AAPS, Miami Beach, USA, November 5-9, 1995.

H. Takanaga, H. Maeda, T. Ogihara, Y. Sai, I. Tamai, H. Higashida and A. Tsuji, Cloning and functional characterization of intestinal proton-coupled transporter for monocarboxylic acids. Annual Meeting of AAPS, Miami Beach, USA, November 5-9, 1995.

玉井郁巳、林 喜代美、崔 吉道、辻 彰、東田陽博、白神俊幸、宮本賢一、武田英二、小腸オリゴペプチドトランスポーターの組織・細胞内分布と薬物輸送特性、第10回日本薬物動態学会年会（大宮）、1995年11月7日～9日。

高長ひとみ、稲葉真一、前田 宏、萩原琢男、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、東田陽博、プロトン共輸送系を介したモノカルボン酸系化合物の消化管吸収特性、第10回日本薬物動態学会年会（大宮）、1995年11月7日～9日。

萩原琢男、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、Fractal理論による担体介在型膜透過機構の解析、第10回日本薬物動態学会年会（大宮）、1995年11月7日～9日。

玉井郁巳、細胞膜輸送担体を利用した組織選択的薬物デリバリー、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

梶田昌裕、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、若間淳、若宮建昭、Absorptive-Mediated Transcytosisを介したペプチドの消化管吸収、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

前田宏、佐伯文佳、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、山田一磨呂、消化管吸収におけるセロトニンの吸収機構の解明と薬物送達への応用、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

坂田篤、宮下俊明、小村純子、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、mdr1a遺伝子欠損動物を用いたP-糖タンパク質を介する薬物相互作用の解析、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

林喜代美、東康彦、中出進、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、東田陽博、宮本賢一、武田英二、G. Vadivel、L. Frederick、小腸H⁺/オリゴペプチド輸送担体PepT1の基質認識性、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

河原昌美、辻彰、南保俊雄、妊娠ラットにおけるp-phenylbenzoic acidの体内動態の生理学的薬物速度論モデルによる解析、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

村田光夫、佐藤奈津子、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、杉山雄一、ニューキノロン系抗菌薬HSR-903の肝動態解析、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

村田光夫、佐藤奈津子、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、ニューキノロン系抗菌薬の担体介在肺移行、日本薬学会第116年会（金沢）、1996年3月27日～29日。

A. Tsuji, *In vitro* models for carrier-mediated intestinal absorption of drugs, 2nd World congress on alternatives and animal use in the life sciences, Utrecht, Netherland, October 20-24, 1996.

加藤寛、村田光夫、崔吉道、玉井郁巳、辻彰、ニューキノロン系抗菌薬HSR903の脳排出、第12回国際DDS学会（京都）、1996年7月7日。

I. Tamai, Y. Sai, T. Wakamiya and A. Tsuji, Enhanced oral absorption of peptides via absorptive-mediated endocytosis/transcytosis, 第23回CRS学会（京都）、1996年7月7日～10日。

Y. Sai, I. Tamai, K. Hayashi, K. Miyamoto, E. Takeda, H. Higashida, M. Numata, S. Iseki and A. Tsuji, Immunolocalization and pharmacological relevance for oligopeptide transporter, PepT1 in intestinal absorption of β -lactam antibiotics, 第23回CRS学会（京都）、1996年7月7日～10日。

H. Takanaga, I. Tamai, Y. Sai, H. Higashida, H. Yamamoto and A. Tsuji, Functional characterization and cDNA cloning of proton-coupled monocarboxylate transporter, 第23回 CRS学会 (京都)、1996年7月7日～10日.

坂田 篤、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、薬物の脳内動態に及ぼす多剤耐性克服剤の影響 -mdr1a遺伝子欠損動物を用いた速度論的解析-、第55回日本癌学会 (横浜)、1996年10月10日～12日.

佐伯文佳、范 海天、斉藤良一、山田一麻呂、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、消化管分泌が関与する非線形的薬物吸収、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

加藤 寛、村田光夫、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、排出輸送系介在血液脳関門機能による新規キノロン系抗菌薬の脳移行制限、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

坂田 篤、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、P-糖タンパク質を介する薬物間相互作用を利用した脳移行制御、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

河原昌美、坂田 篤、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、mdr1a欠損動物を用いたdigoxin脳排出動態の生理学的薬物速度論による解析、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

中原治樹、高松直之、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、PepT1を介したL-DOPAプロドラッグの消化管吸収、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

稲葉真一、高長ひとみ、小野彰彦、小村純子、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、血液脳関門におけるモノカルボン酸トランスポーターの機能特性、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

藪内 光、高長ひとみ、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、アニオン交換輸送担体AE2はモノカルボン酸系薬物を輸送するか?、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

范 海天、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、分泌機構が関与する免疫抑制剤の非線形的消化管吸収、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

小村純子、崔 吉道、玉井郁巳、辻 彰、血液脳関門における酸性アミノ酸の輸送機構、第11回日本薬物動態学会 (金沢)、1996年10月16日～18日.

橋本憲佳、玉井郁巳、鈴木文男、横川弘一、崔 吉道、宮本謙一、二階堂浩子、早川純一郎、辻 彰、遺伝子量依存的カルニチントランスポート機能変動: JVSマウスを用いた解析、生体膜シンポジウム (徳島) 1996年11月15日～16日.

玉井 郁巳、崔 吉道、辻 彰、薬物の生体膜輸送の臓器相関、第18回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム特別企画 (徳島)、1996年11月15日～16日.

玉井 郁巳、小腸上皮トランスポーターと薬物の消化管吸収、日本薬学会関東支部シンポジウム -経口投与剤開発を目指して：薬物吸収の研究に腸管機能・形態をどこまで知っておくべきか- (東京)、1997年1月20日～21日。

(3) 出版物

T. Terasaki and A. Tsuji, Blood-Brain Barrier Peptide Transport, Peptide-Based Drug Design: Controlling Transport and Metabolism, Michael Taylor and Gordon Amidon ed., American Chemical Society, Washington DC., pp. 297-316 (1995).

*A. Tsuji, Intestinal absorption of β -lactam antibiotics. Peptide-Based Drug Design: Controlling Transport and Metabolism, Michael Taylor and Gordon L. Amidon ed., American Chemical Society, Washington DC., pp. 101-134 (1995).

*A. Tsuji and I. Tamai, Sodium- and chloride-dependent transport of taurine at the blood-brain barrier, Taurine 2, Huxtalbe *et al.* ed., Plenum Press, New York, pp. 385-391 (1996).