

組織関門トランスポーターを介した 薬物組織分布の制御

慶應義塾大学薬学部薬剤学講座
登美斉俊



1. 組織関門とは

組織関門は脳、網膜や胎盤など特に高い恒常性維持を必要とする組織で機能しており、循環血液と組織細胞間液（胎盤関門の場合は胎児血液）の境界面において相互の物質移動を制御している。組織関門は大きく2つのタイプに分けられる（図1）。第一のタイプは内皮細胞関門であり、血管を構成する内皮細胞同士が密着結合することで関門として機能する。もう一方は上皮細胞関門であり、血管の透過性は高いものの、組織実質との境界面には密着結合によって結びついた上皮細胞層が形成され、関門として機能する。脳や網膜では、血液脳関門（内皮）と血液脳脊髄液関門（上皮）、内側血液網膜関門（内皮）と外側血液網膜関門（上皮）が共に機能することで組織内恒常性を維持している。胎盤では多核の上皮細胞によって関門が形成されている。

組織関門では密着結合によって組織細胞間液への物質の移行が制限されているため、栄養物質の組織への選択的供給や、組織内代謝物・異物の排出輸送を担うトランスポーター群が活発に機能している。これは、組織関門が機能する組織では薬物組織分布に対してトランスポーターの寄与が相対的に大きいことを意味する。したがって、薬効・毒性発現組織への分布に組織関門が関与する場合には、組織関門トランスポーターが薬物組織分布、さらには薬効・毒性発現に果たす役割の把握が特に重要である。

本稿では組織関門のうち、特に血液脳関門、血液網膜関門、胎盤関門を取り上げ、組織関門トランスポーターが薬

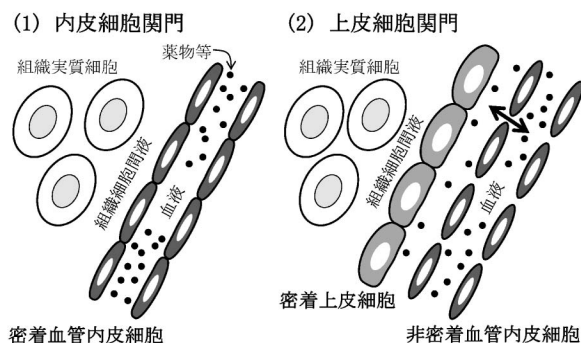


図1 組織関門の種類と構造

物組織分布に果たす役割について、最近の報告を中心に紹介したい。

2. 血液脳関門

血液脳関門の実体は脳実質組織と循環血液との境界に位置する脳毛細血管内皮細胞である。血液脳関門には多様な薬物トランスポーター群が血液側あるいは脳実質側に極性局在して機能していることが明らかとなっている。

血液脳関門の血液側細胞膜において機能するABCトランスポーターのうち、P-glycoprotein (MultiDrug Resistance protein (MDR) 1/ABCB1)は約20年前から機能解析が進められている。最近では、ヒト血液脳関門におけるP-glycoproteinの機能評価を進めるため、基質である $[^{14}C]$ ベラパミル等を用いたPositron Emission Tomography (PET)解析が進められている。 $[^{14}C]$ ベラパミルの脳への移行性はシクロスポリンAの併用によって約2倍に増加することが報告されており¹⁾、ヒト血液脳関門においてP-glycoproteinが基質薬物の脳移行抑制に機能し、P-glycoproteinを介した薬物間相互作用が存在することを示唆している。さらに、慢性統合失調症患者において、抗精神病薬の長期服用に伴うP-glycoprotein発現誘導が示唆されている²⁾。但し、P-glycoprotein機能抑制がヒト脳内薬物濃度に与える効果は、ノックアウトマウスでの結果と比較して低く、より詳細な解析は必要であるものの、マウスを用いた解析ではヒト血液脳関門におけるP-glycoproteinの活性を過大評価する可能性がある。血液脳関門の血液側細胞膜にはBCRP (Breast Cancer Resistance Protein/ABCG2)も機能し、P-glycoproteinと基質が一部重複するため薬物排出に相乗効果をもたらす³⁾。そのため、P-glycoproteinのみでなくBCRPの機能評価を進めることで、ヒト血液脳関門ABCトランスポーターによる薬物分布抑制機構を包括的に評価することが必要である。

血液脳関門におけるMRP (Multidrug Resistance-associated Protein/ABCC)トランスポーターとして、遺伝子発現量に一部種差はあるものの⁴⁾、MRP1, MRP4, MRP5, MRP6の発現が示されている。マウスMrp4はオセルタミビル活性代謝物(Ro 64-0802)の脳からの排出に機能していることが示されている⁵⁾(オセルタミビル自身はP-glycoproteinの基質である)。

血液脳関門における有機アニオントランスポーターとして、Oat3 (Organic Anion Transporter 3/Slc22a8)が挙げられる。Oat3は血液脳関門の脳実質側細胞膜に局在し^{6,7)}、前述の血液側Mrp4と協調することによってRo 64-0802⁵⁾、ベンジルペニシリン⁷⁾や6-メルカプトプリン⁸⁾を脳から循環血液へと排出している。ヒト血液脳関門におけるOAT3の発現および機能を明確にすることが、今後の課題である。

脳への薬物分布を促進する血液脳関門トランスポーターとして、LAT1 (L-type amino acid transporter 1/SLC7A5)はレボドパの脳移行を担っている。OATP (Organic Anion Transporting Polypeptide/SLCO)ファミリーに属するOATP1A2およびOATP2B1はヒト血液脳関門の血液側膜に発現し^{9,10)}、基質薬物の脳移行性を上昇させると考えられている。

3. 血液網膜関門

網膜神経組織では脳と同様に、神経伝達物質の細胞膜を挟んだ移動によって情報伝達を行っている。そのため、細胞間液中物質濃度を厳密に制御する必要があり、循環血液から網膜への移行には組織関門の透過を必要とする。血液網膜関門は、網膜毛細血管内皮細胞が実体となった内側血液網膜関門、そして網膜と網膜の外側に位置する脈絡膜の境界に位置する網膜色素上皮細胞が実体となった外側血液網膜関門によって構成される(図2)。さらに、網膜の内側に存在する硝子体は血液房水関門による制御を受けている。なお、点眼では大部分が涙液や眼房水とともに前眼部で眼内から排出されるため、後眼部である網膜には薬物がほとんど到達せず、薬理効果の発揮は期待できない。一方、網膜疾患には糖尿病網膜症をはじめとして失明につながるものが多く、薬物治療を目指す上で、循環血液から網膜への薬物分布機構は解明すべき課題である。

糖尿病網膜症における網膜毛細血管障害、具体的には無血管野および新生血管を診断するため、フルオレセインを静脈投与することで網膜血管像を得るフルオレセイン蛍光血管造影が臨床で汎用されている。これは、内側血液網膜関門機能を保持した正常網膜毛細血管においてフルオレセインは網膜に移行しない性質を利用している。さらに、眼球内に投与したフルオレセインは網膜内から積極的に排出されることが古くから知られている。血液網膜関門におけるフルオレセイン輸送を担う分子実体は明らかでなかったが、最近、げっ歯類において内側血液網膜関門の網膜実質

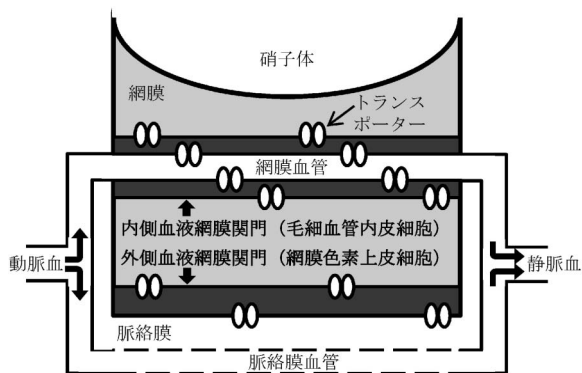


図2 血液網膜関門の構造模式図

側細胞膜にOat3¹¹⁾、血液側細胞膜にMrp4が発現していることが示された¹²⁾。Oat3とMrp4は共にフルオレセインを基質とするため、網膜から循環血液へのフルオレセイン排出輸送に関与していると考えられる。さらに、ラット眼球内に留置したマイクロダイアリスプローブを通して薬物濃度を測定することで、パラアミノ馬尿酸、ベンジルペニシリンや6-メルカプトプリン¹¹⁾のOat3を介した排出機構の存在が示唆されている¹¹⁾。同様の手法を用い、estradiol 17- β glucuronideの眼球内からの排出にOatp1a4が関与することも示唆されている¹³⁾。本結果は、Oatp1a4が内側および外側血液網膜関門に発現していることと一致する¹⁴⁾。

内側血液網膜関門の血液側細胞膜に発現するABCトランスポーターとしては、P-glycoprotein¹⁵⁾、Bcrp¹⁶⁾、および前述のMrp4が報告されている。さらに、Mrp3、Mrp6などの遺伝子発現も示されている¹⁷⁾。薬物の血液網膜関門透過性と脂溶性の間には相関性があるが、P-glycoprotein基質であるジゴキシン、ピンクリスチンの血液網膜関門透過性は脂溶性との相関からはずれ¹⁸⁾。そのため、血液網膜関門においてP-glycoproteinは基質薬物の網膜移行抑制に有意に機能していると考えられる。

血液網膜関門トランスポーターの解明は進みつつあるが、現時点ではげっ歯類での情報に偏っている¹⁹⁾。網膜は微細組織であり、ヒトにおける輸送機能解析は脳以上に難しい。しかし、ヒト血液網膜関門におけるトランスポーターの発現・局在を解明することは可能であり、網膜への薬物移行性を予測するための情報として、今後の更なる研究の進展が望まれる。

4. 胎盤関門

胎盤関門は母体血液と胎児血液との境界に位置する胎盤合体栄養膜細胞(Syncytiotrophoblast)が実体であり、母体-胎児血液間の物質透過を制御している。胎盤関門には妊娠第3期以降FcRn (neonatal Fc receptor)が強く発現し、FcRnを介したトランスサイトシスによりIgGを胎児に移行させることで母体免疫を胎児に獲得させる。そのため、母親に投与された抗体医薬品が胎児に積極的に移行する可能性が高く、妊婦への投与は慎重に取り扱われる。これは、抗体医薬品の組織分布は主に受動的な機構によるため関門組織での透過性は低いこと、さらに血液脳関門ではIgG排出機構も備わっていることとは対照的であり²⁰⁾、薬物動態を考える上での胎盤関門の特性である。

ヒト胎盤関門母体血側細胞膜に発現する主要なABCトランスポーターとして、P-glycoprotein、BCRP、およびMRP2が挙げられる。ヒト胎盤機能を評価する上での一つのメリットは、満期胎盤を利用することで遺伝子型が表現型に及ぼす影響を解析することが比較的容易な点であ

る。そのため、トランスポーター遺伝子多型が薬物の胎盤関門透過性に及ぼす影響について、相反する報告も含め、組織関門の中でも特に解析が進んでいる。P-glycoprotein 遺伝子多型のうち、G2677A/T 変異による胎盤 P-glycoprotein タンパク発現減少²¹⁾、C3544T 変異による胎盤 P-glycoprotein タンパク発現減少²²⁾もしくは上昇²³⁾が報告されている。HIV 陽性妊婦に投与されるサキナビルの胎盤関門母体-胎児方向の透過は P-glycoprotein 阻害剤によって約 7 倍に増加することが示されているが²⁴⁾、C3544T 変異によるサキナビルの胎盤透過への影響はないとの結果も得られている²³⁾。なお、BCRP については C421A 変異により胎盤におけるタンパク発現が減少すること²⁵⁾、MRP2 については G1249A 変異により胎盤における mRNA 発現が減少すること²⁶⁾が各々報告されている。

胎盤は妊娠に伴い急速に組織が発達し、さらに妊娠進行に伴い必要な機能調節を受ける。胎盤でのトランスポーター発現も妊娠進行に伴って大きく変動するため、満期胎盤での情報だけでなく、各時期における発現量および発現変動機構を解明することも重要である。出産直前におけるヒト P-glycoprotein の発現は妊娠前期・中期に比べて低く²⁷⁾、マウス Bcrp は妊娠中期に最も発現量が高く²⁸⁾、ヒト MRP2 の発現は出産直前において最も高い²⁶⁾。

ヒト胎盤関門胎児血側細胞膜には OAT4 (SLC22A11)、OATP2B1 や OCT3 (SLC22A3) などの薬物トランスポーターが局在している。OAT4 の発現は腎臓と胎盤に限られる²⁹⁾。OCT3 も胎盤に強い発現が示され、発現量は妊娠初期において特に高くその後、妊娠進行に伴い減少する³⁰⁾。さらに、ジドブジン³¹⁾やエリスロマイシン³²⁾の胎盤関門透過において、独自の輸送機構の存在が示唆されている。このように、胎盤関門トランスポーターには発現組織特異性の高いものが比較的多く、胎盤関門独自の薬物透過特性に結びついていると考えられる。

5. おわりに

近年、トランスポーターを介した薬物間相互作用やトランスポーター遺伝子多型が臨床薬物動態に及ぼす影響を裏付ける報告が数多くされている。しかし、薬物組織分布に対する組織関門トランスポーターの関与を示唆するヒト臨床データは依然として不十分である。ヒトにおける薬物組織分布を解析する手法は限られていたが、最近では組織関門トランスポーターのタンパク発現量情報³³⁾や PET によるトランスポーター基質の組織分布情報など、新たなアプローチによる研究が進められている。これら情報を統合し、トランスポーターを介した薬物組織分布を高精度に予測可能とすることが、今後の重要な課題といえる。

参考文献

- 1) Sasongko, L., Link, J. M., Muzi, M., Mankoff, D. A., Yang, X., Collier, A. C., Shoner, S. C. and Unadkat, J. D.: Imaging P-glycoprotein transport activity at the human blood-brain barrier with positron emission tomography. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **77**: 503-514 (2005).
- 2) de Klerk, O. L., Willemsen, A. T. M., Bosker, F. J., Bartels, A. L., Hendrikse, N. H., den Boer, J. A. and Dierckx, R. A.: Regional increase in P-glycoprotein function in the blood-brain barrier of patients with chronic schizophrenia: A PET study with [¹¹C]verapamil as a probe for P-glycoprotein function. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, **183**: 151-156 (2010).
- 3) Polli, J. W., Olson, K. L., Chism, J. P., John-Williams, L. S., Yeager, R. L., Woodard, S. M., Otto, V., Castellino, S. and Demby, V. E.: An unexpected synergist role of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein on the central nervous system penetration of the tyrosine kinase inhibitor lapatinib (N-{3-chloro-4-[(3-fluorobenzyl)oxy]phenyl}-6-[5-({[2-(methylsulfonyl)ethyl]amino}methyl)-2-furyl]-4-quinazolinamine; GW572016). *Drug Metab. Dispos.*, **37**: 439-442 (2009).
- 4) Warren, M. S., Zerangue, N., Woodford, K., Roberts, L. M., Tate, E. H., Feng, B., Li, C., Feuerstein, T. J., Gibbs, J., Smith, B., de Moraes, S. M., Dower, W. J. and Koller, K. J.: Comparative gene expression profiles of ABC transporters in brain microvessel endothelial cells and brain in five species including human. *Pharmacol. Res.*, **59**: 404-413 (2009).
- 5) Ose, A., Ito, M., Kusuhara, H., Yamatsugu, K., Kanai, M., Shibasaki, M., Hosokawa, M., Schuetz, J. D. and Sugiyama, Y.: Limited brain distribution of [3R,4R,5S]-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)-1-cyclohexene-1-carboxylate phosphate (Ro 64-0802), a pharmacologically active form of oseltamivir, by active efflux across the blood-brain barrier mediated by organic anion transporter 3 (Oat3/Slc22a8) and multidrug resistance-associated protein 4 (Mrp4/Abcc4). *Drug Metab. Dispos.*, **37**: 315-321 (2009).
- 6) Mori, S., Takanaga, H., Ohtsuki, S., Deguchi, T., Kang, Y. S., Hosoya, K. and Terasaki, T.: Rat organic anion transporter 3 (rOAT3) is responsible for brain-to-blood efflux of homovanillic acid at the abluminal membrane of brain capillary endothelial cells. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **23**: 432-440 (2003).
- 7) Kikuchi, R., Kusuhara, H., Sugiyama, D. and Sugiyama, Y.: Contribution of organic anion transporter 3 (Slc22a8) to the elimination of p-aminohippuric acid and benzylpenicillin across the blood-brain barrier. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **306**: 51-58 (2003).
- 8) Mori, S., Ohtsuki, S., Takanaga, H., Kikkawa, T., Kang, Y.

- S. and Terasaki, T.: Organic anion transporter 3 is involved in the brain-to-blood efflux transport of thiopurine nucleobase analogs. *J. Neurochem.*, **90**: 931–941 (2004).
- 9) Gao, B., Hagenbuch, B., Kullak-Ublick, G. A., Benke, D., Aguzzi, A. and Meier, P. J.: Organic anion-transporting polypeptides mediate transport of opioid peptides across blood-brain barrier. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **294**: 73–79 (2000).
 - 10) Bronger, H., Konig, J., Kopplow, K., Steiner, H. H., Ahmadi, R., Herold-Mende, C., Keppler, D. and Nies, A. T.: ABC drug efflux pumps and organic anion uptake transporters in human gliomas and the blood-tumor barrier. *Cancer Res.*, **65**: 11419–11428 (2005).
 - 11) Hosoya, K., Makihara, A., Tsujikawa, Y., Yoneyama, D., Mori, S., Terasaki, T., Akanuma, S., Tomi, M. and Tachikawa, M.: Roles of inner blood-retinal barrier organic anion transporter 3 in the vitreous/retina-to-blood efflux transport of p-aminohippuric acid, benzylpenicillin, and 6-mercaptopurine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **329**: 87–93 (2009).
 - 12) Tagami, M., Kusuhara, S., Honda, S., Tsukahara, Y. and Negi, A.: Expression of ATP-binding cassette transporters at the inner blood-retinal barrier in a neonatal mouse model of oxygen-induced retinopathy. *Brain Res.*, **1283**: 186–193 (2009).
 - 13) Katayama, K., Ohshima, Y., Tomi, M. and Hosoya, K.: Application of microdialysis to evaluate the efflux transport of estradiol 17-beta glucuronide across the rat blood-retinal barrier. *J. Neurosci. Methods*, **156**: 249–256 (2006).
 - 14) Gao, B., Wenzel, A., Grimm, C., Vavricka, S. R., Benke, D., Meier, P. J. and Reme, C. E.: Localization of organic anion transport protein 2 in the apical region of rat retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **43**: 510–514 (2002).
 - 15) Hosoya, K. and Tomi, M.: Advances in the cell biology of transport via the inner blood-retinal barrier: establishment of cell lines and transport functions. *Biol. Pharm. Bull.*, **28**: 1–8 (2005).
 - 16) Asashima, T., Hori, S., Ohtsuki, S., Tachikawa, M., Watanabe, M., Mukai, C., Kitagaki, S., Miyakoshi, N. and Terasaki, T.: ATP-binding cassette transporter G2 mediates the efflux of phototoxins on the luminal membrane of retinal capillary endothelial cells. *Pharm. Res.*, **23**: 1235–1242 (2006).
 - 17) Tachikawa, M., Toki, H., Tomi, M. and Hosoya, K.: Gene expression profiles of ATP-binding cassette transporter A and C subfamilies in mouse retinal vascular endothelial cells. *Microvasc. Res.*, **75**: 68–72 (2008).
 - 18) Hosoya, K., Yamamoto, A., Akanuma, S. and Tachikawa, M.: Lipophilicity and transporter influence on blood-retinal barrier permeability: a comparison with blood-brain barrier permeability. *Pharm. Res.*, **27**: 2715–2724 (2010).
 - 19) Tomi, M. and Hosoya, K.: The role of blood-ocular barrier transporters in retinal drug disposition: an overview. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **6**: 1111–1124 (2010).
 - 20) Tabrizi, M., Bornstein, G. G. and Suria, H.: Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. *AAPS J.*, **12**: 33–43 (2010).
 - 21) Tanabe, M., Ieiri, I., Nagata, N., Inoue, K., Ito, S., Kanamori, Y., Takahashi, M., Kurata, Y., Kigawa, J. and Higuchi, S.: Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **297**: 1137 (2001).
 - 22) Hitzl, M., Schaeffeler, E., Hocher, B., Slowinski, T., Halle, H., Eichelbaum, M., Kaufmann, P., Fritz, P., Fromm, M. F. and Schwab, M.: Variable expression of P-glycoprotein in the human placenta and its association with mutations of the multidrug resistance 1 gene (MDR1, ABCB1). *Pharmacogenetics*, **14**: 309–318 (2004).
 - 23) Rahi, M., Heikkinen, T., Hakkola, J., Hakala, K., Wallerman, O., Wadelius, M., Wadelius, C. and Laine, K.: Influence of adenosine triphosphate and ABCB1 (MDR1) genotype on the P-glycoprotein-dependent transfer of saquinavir in the dually perfused human placenta. *Hum. Exp. Toxicol.*, **27**: 65–71 (2008).
 - 24) Molsa, M., Heikkinen, T., Hakkola, J., Hakala, K., Wallerman, O., Wadelius, M., Wadelius, C. and Laine, K.: Functional role of P-glycoprotein in the human blood-placental barrier. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **78**: 123–131 (2005).
 - 25) Kobayashi, D., Ieiri, I., Hirota, T., Takane, H., Maegawa, S., Kigawa, J., Suzuki, H., Nanba, E., Oshimura, M., Terakawa, N., Otsubo, K., Mine, K. and Sugiyama, Y.: Functional assessment of ABCG2 (BCRP) gene polymorphisms to protein expression in human placenta. *Drug Metab. Dispos.*, **33**: 94–101 (2005).
 - 26) Meyer zu Schwabedissen, H. E., Jedlitschky, G., Gratz, M., Haenisch, S., Linnemann, K., Fusch, C., Cascorbi, I. and Kroemer, H. K.: Variable expression of MRP2 (ABCC2) in human placenta: influence of gestational age and cellular differentiation. *Drug Metab. Dispos.*, **33**: 896–904 (2005).
 - 27) Sun, M., Kingdom, J., Baczyk, D., Lye, S. J., Matthews, S. G. and Gibb, W.: Expression of the multidrug resistance P-glycoprotein, (ABCB1 glycoprotein) in the human placenta decreases with advancing gestation. *Placenta*, **27**: 602–609 (2006).
 - 28) Wang, H., Wu, X., Hudkins, K., Mikheev, A., Zhang, H., Gupta, A., Unadkat, J. D. and Mao, Q.: Expression of the breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2) in tissues from pregnant mice: effects of pregnancy and correlations with nuclear receptors. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **291**: E1295–304 (2006).
 - 29) Cha, S. H., Sekine, T., Kusuhara, H., Yu, E., Kim, J. Y.,

- Kim, D. K., Sugiyama, Y., Kanai, Y. and Endou, H.: Molecular cloning and characterization of multispecific organic anion transporter 4 expressed in the placenta. *J. Biol. Chem.*, **275**: 4507–4512 (2000).
- 30) Verhaagh, S., Schweifer, N., Barlow, D. P. and Zwart, R.: Cloning of the mouse and human solute carrier 22a3 (Slc22a3/SLC22A3) identifies a conserved cluster of three organic cation transporters on mouse chromosome 17 and human 6q26-q27. *Genomics*, **55**: 209–218 (1999).
- 31) Sai, Y., Nishimura, T., Shimo, S., Chishu, T., Sato, K., Kose, N., Terasaki, T., Mukai, C., Kitagaki, S., Miyakoshi, N., Kang, Y. S. and Nakashima, E.: Characterization of the mechanism of zidovudine uptake by rat conditionally immortalized syncytiotrophoblast cell line TR-TBT. *Pharm. Res.*, **25**: 1647–1653 (2008).
- 32) Sai, Y., Nishimura, T., Ochi, K., Tanaka, N., Takagi, A., Tomi, M., Kose, N., Kobayashi, Y., Miyakoshi, N., Kitagaki, S., Mukai, C. and Nakashima, E.: Proton-coupled erythromycin antiport at rat blood-placenta barrier. *Drug Metab. Dispos.*, **38**: 1576–1581 (2010).
- 33) Kamiie, J., Ohtsuki, S., Iwase, R., Ohmine, K., Katsukura, Y., Yanai, K., Sekine, Y., Uchida, Y., Ito, S. and Terasaki, T.: Quantitative atlas of membrane transporter proteins: development and application of a highly sensitive simultaneous LC/MS/MS method combined with novel in-silico peptide selection criteria. *Pharm. Res.*, **25**: 1469–1483 (2008).