血液網膜関門輸送機能と薬物網膜内動態制御

富山医科薬科大学薬学部
細谷　健一

１．　はじめに

網膜は、角膜から入ってくる光の情報を電気信号に変換して脳へ伝達する役割を担う神経細胞で構成されており、視覚を制御するために網膜内の恒常性は厳密に維持される必要がある。脳において血液脳関門（blood-brain barrier, BBB）が存在し、脳内の恒常性を維持するために脳への薬物輸送を制御していることがこれまでの研究で明らかとなっている。網膜においては、網膜血管内皮細胞で構成される内側血液網膜関門（inner blood-retinal barrier: inner BRB）および網膜色素上皮細胞で構成される外側血液網膜関門（outer BRB）が存在しており、脳のバリアーと形態学的に同じであることは知られていた。しかしながら、BBB 研究に比べると、inner BRB における輸送担体の発現機能および網膜への薬物移行性に関する情報は非常に限られており、1999 年の時点で、inner BRB における輸送担体の発現は免疫染色解析法を用いて、ヘキソース輸送担体(GLUT1)、モノカルボン酸輸送担体(MCT1)および P-糖タンパクの３つが報告されていたのみであった。この一つの要因として、網膜は小さな臓器であり、in vivo および in vitro における薬物輸送機構解析が困難であることが挙げられる。本フォーラムでは、inner BRB における輸送担体の発現、機能とその解析法について紹介し、網膜への薬物送達における動態制御戦略と創剤科学の今後の方向性について議論したいと思う。

２．　網膜への物質供給機構解析

網膜は神経細胞で構成されており、さらに体内でも光による酸化的ストレスが高い臓器である。この様な観点から、神経伝達物質の前駆物質、抗酸化作用物質およびエネルギー恒常性維持物質の供給機構について解析を行った。In vivo 解析においては、血液から網膜への物質輸送は解析できるが、inner BRB と outer BRB の機能を分離して解析することが困難である。そのため、第一に inner BRB の in vitro 実験系として条件的不死化ラット網膜毛細血管内皮細胞株(TR-iBRB）[1)]を開発し、本細胞株を用いて輸送機構を解析した。第二に、CD31（内皮細胞特異的表面抗原）に対する磁気ビーズ標識抗体を利用した inner BRB 高純度単離法 [2)]を用いて、inner BRB における輸送担体発現を ex vivo で網羅的かつ定量的に解析することを可能とし、inner BRB における輸送担体 mRNA 発現量を定

量した。これらの手法やさらに免疫染色法解析から、inner BRB では GLUT1 を介したグルコースおよび vitamin C 輸送系、LAT1 および xCT を介したアミノ酸輸送系、TAUT を介したタウリン輸送系、CRT を介したクレアチン輸送系などが機能し、網膜への必須物質供給を担っていることが明らかとなった。（図１）[3-6]。

３．網膜からの物質排出輸送機構解析

網膜内で作用する神経伝達物質、ホルモンおよび薬物の代謝物は、最終的には BRB を介して排出されていると考えられる。Microdialysis 法を用いることによってラット網膜からの物質排出輸送を in vivo で解析することを可能とした。Estradiol 17-β glucuronide と dehydroepiandrosterone sulfate の網膜からの見かけの消失に及ぼす他の有機アニオンの阻害効果、および磁気ビーズ標識抗 CD31 抗体を用いて単離した inner BRB を用いた輸送担体発現解析から、inner BRB において organic anion transporting polypeptide 2 (oatp2)が発現し、排出輸送に関わっていることが示唆された。

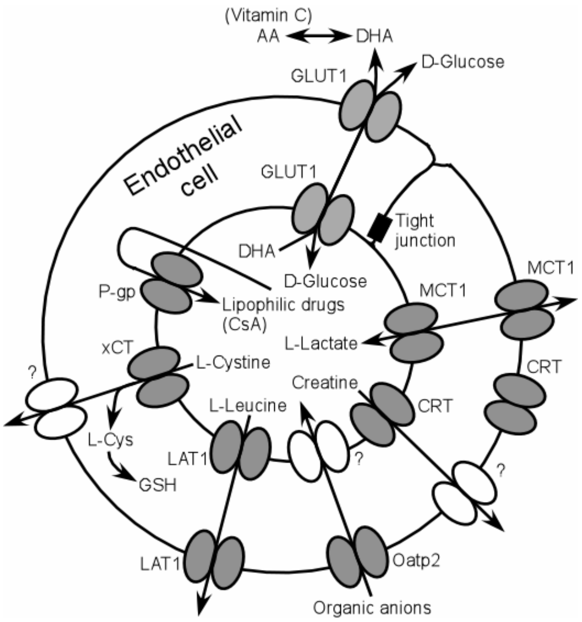

図１　内側血液網膜関門における輸送担体の発現と機能

４．おわりに

高齢化社会を迎え、糖尿病網膜症や加齢黄斑変性症などの網膜疾患に対する

薬物治療法の開発は重要である。点眼による網膜への薬物送達はほぼ不可能であるため、全身循環血から血液網膜関門を介した網膜への薬物送達法による治療法開発が望まれており、「飲む目薬」開発を目指している。Inner BRB の輸送機能解析を通し、少しでも目標に近づきたいと願っている。

５．参考論文

(1) Hosoya et al.: ***Exp. Eye Res.***, 72, 163-172 (2001). (2) Tomi and Hosoya：***J. Neurochem.***, 91, 1244-1248 (2004). (3) Tomi et al.: ***Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.***, 43, 774-779 (2002). (4) Hosoya et al.: ***Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.***, 45, 1232-1239 (2004). (5) Nakashima et al.: ***J. Neurochem.***, 89, 1454-1461 (2004). (6) Tomi et al.: ***Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.***, 46, 2522-2530 (2005).

富山医科薬科大学薬学部
細谷　健一

２１世紀は、ゲノム創薬および薬理ゲノミックスの時代であると言われており、創薬研究のパラダイムシフトとしてゲノム創薬には大いに期待がされている。現在、遺伝子診断による医薬品の適正使用の始まりの時代であり、テーラーメイド医療に向けて薬物動態研究においても薬物代謝酵素およびトランスポーターの多型解析がさかんに行われている。さらに、２１世紀後半から２２世紀には患者個人の遺伝子情報と機能タンパク情報などから患者に最適な医薬品を合成し、ドラッグデリバリーの進歩に伴いミサイル療法が可能となり、患者個人に対するオーダーメイド医療に向かうことと思われる。薬物代謝酵素およびトランスポーターの多型のフェノタイプである機能タンパクの発現量が薬物の体内動態に影響を及ぼすため、薬物動態の最適化には、これらタンパクの機能（活性）を簡便に測定する必要がある。測定法の技術開発が今後の大きな課題であるが、体重計にのると体重や体脂肪率が測定できるように、バイオ計にのれば様々な活性がわかることが理想である。

研究課題としては、腎機能のマーカーとしてクレアチニンが使用されているように、代謝活性および輸送活性を示すバイオマーカーを見つけることが今後の鍵を握ると考える。例えば、尿中排泄される内因性物質でCYP3A4の基質であれば簡単に測定でき、代謝物の量で活性が推定できれば、CYP3A4の個人間の活性差のみならず､食物や他の薬物による阻害や誘導によるCYP3A4の活性の変化予測が可能となる。一方、臓器特異的に薬物を送るミサイル療法は、作用の増強および投与量の減少をもたらす有効な手段である。リポソームのようなデバイスに抗体などのミサイルを結合させることも一つであるが、標的部位に高く発現しているトランスポーターの基質となるように薬物自身をデザインすることや基質と結合させたプロドラッグ化も一つの戦略である。さらに、トランスポーターの発現量および機能調節研究からトランスポーターの転写因子や核内受容体としていくつかのものが見いだされ、研究が進んでいる。発現調節機構

の情報を基に標的臓器に発現するトランスポーターを一時的に発現誘導し、基質薬物の標的臓器への移行性を高めることも重要な戦略である。例えば、血液脳関門に発現しているトランスポーターで、ホルモンやその他の因子を用いて一時的に発現誘導や機能を高めることができれば、脳への選択的薬物輸送が可能となる。

２１世紀の今後は、薬物代謝酵素およびトランスポーターの多型も含め分子機構が解明されてくる。これらの情報を創薬への応用および医薬品の適正使用へと導く薬物動態研究者の役割は益々重要となる。