

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H06218

研究課題名(和文) ヒトの血液脳関門における薬物の輸送に寄与できる高活性トランスポーターの探索

研究課題名(英文) Discovery of high capacity transporters contributing to the drug transport at the human blood-brain barrier

研究代表者

内田 康雄(Uchida, Yasuo)

東北大学・薬学研究科・講師

研究者番号：70583590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,400,000円

研究成果の概要(和文)：血液脳関門を含めた中枢関門は、末梢と中枢の間の、薬物を含めた物質の重要な交換ルートである。細胞膜に発現する輸送担体が重要な役割を果たす。従来の研究は、細胞膜上での輸送担体の種類、量、機能を追跡できず、かつ、げっ歯類中心であった。本研究では、細胞膜タンパクにも適用できる網羅的絶対定量プロテオミクス「qGAP法」を開発し、ヒト血液脳関門を含めた中枢関門の新たな輸送分子機構を網羅的に解明した。従来想定していなかった多くの輸送担体(OAT1、OAT3、MATE1、OCT2の高発現など)の発見によって、中枢における薬物・物質動態が合理的に理解できるようになり、ヒト中枢関門学の基盤を築くことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含めた大動物とげっ歯類の間では、血液脳関門の輸送機構に定量的な種差があることが先行研究から明らかになっていた。従来の中枢関門研究は、げっ歯類の使用を中心としたものであったため、ヒトの疾患治療を考えるうえで、大きな乖離があった。これに対して、本研究では、ヒト血液脳関門を含めた中枢関門における輸送分子機構を初めて体系的に解明した。特に、中枢組織の周りを覆うクモ膜が、末梢と中枢の間の重要な関門であり、多様な物質輸送機構を有することを明らかにしたことは、中枢領域のあらゆる研究に対して新しい潮流を生み出したといえる。本研究成果は、中枢疾患治療薬の開発戦略に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：The central nervous system (CNS) barriers including blood-brain barrier (BBB) is an important route to exchange a variety of substances including drugs between peripheral and CNS tissues. Transporting proteins expressed at the plasma membrane play important roles. The previous technologies and studies were not able to pursue the kinds, amounts and functions of transporting proteins at the plasma membrane, and mainly using rodents but not human materials. In the present study, we established comprehensive absolute quantitative proteomics “qGAP method” applicable for membrane proteins, and comprehensively elucidated new transport-molecular mechanisms in the CNS barriers including human BBB. The findings of many transporters (abundant expressions of OAT1, OAT3, MATE1, OCT2 etc) enabled to rationally understand the CNS pharmacokinetics. In conclusion, the present study was the first to systematically establish the basis of human CNS barrier biology.

研究分野：分子薬理学

キーワード：血液脳関門 血液クモ膜関門 トランスポーター・酵素・受容体探索 中枢薬物動態 qGAP法 SWATH法 qTAP法 プロテオミクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

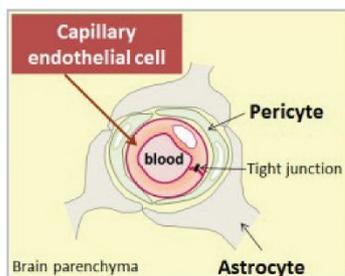
血液脳関門を含めた中枢関門(図1)の物質輸送機構を解明することは、中枢組織の恒常性維持機構の理解および中枢疾患治療薬開発において非常に重要な課題である。脳毛細血管内皮細胞のオミクス解析に基づいた網羅的なトランスポーター探索や抗体を用いた発現の検証が行われているが、いずれも定性的な発現解析であることや、定量的であっても mRNA 発現量は細胞膜上のトランスポーターの量を反映しないなどの理由から、多数の発現分子の中から血液脳関門の物質輸送に寄与するトランスポーターの候補を絞り込めていない。輸送活性を指標とした発現クローニング法も一見合理的な方法であるが、現実には厳しく、この10年以上新規分子は同定されていない。

中枢組織の周囲を取り囲むクモ膜は、循環血液と中枢内を隔てる関門「血液クモ膜関門」を形成している。脳脊髄液の約80%は、この血液クモ膜関門に面するクモ膜下腔に存在することから(Thorne, *Drug Delivery to the Brain*, Springer, 2014, pp 685-707) 中枢の物質動態を制御している可能性がある。中枢の物質動態に関して、血液脳関門では説明できない物質輸送機構を有している可能性がある。しかし、どのような輸送機構が存在するかは全く不明であった。

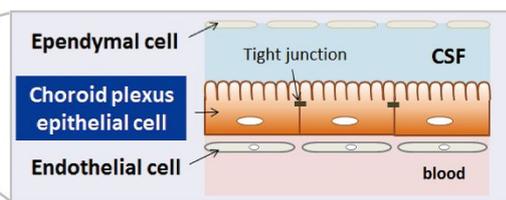
研究代表者の内田は、スイス連邦工科大学の Ruedi Aebersold 教授のもとへ、JSPS の海外特別研究員として2年間留学し、網羅的な定量プロテオミクス手法「SWATH 法」(*Mol Cell Proteomics* 2012; 11(6): O111 O16717) を習得した。自身の膜タンパク質解析で構築してきた「膜タンパク質に対する試料調製法」と「高精度・好感度ペプチドを選択するためのクライテリア」(Uchida et al., *Fluids Barriers CNS* 2013; 10(1): 21) を上記の SWATH 法に組み合わせることによって、安定同位体標識ペプチドを使用せずに、網羅的に膜タンパク質の絶対発現量を高精度に決定できる手法を開発できると考えた。

中枢の関門組織は、微量であるため、十分量の組織が必要である。美原記念病院ブレインバンクの責任者の高尾昌樹教授(埼玉医科大学)との共同研究を開始したことによって、高品質の、ヒトの中枢組織を用いた研究が可能になった。

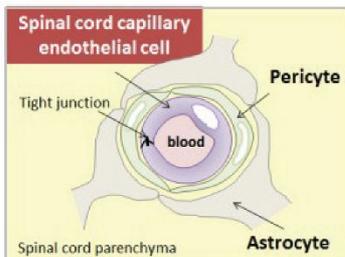
1. 血液脳関門 (脳毛細血管内皮細胞)



2. 血液脳脊髄液関門 (脈絡叢上皮細胞)



4. 血液脊髄関門 (脊髄血管内皮細胞)



3. 血液クモ膜関門 (クモ膜上皮細胞)

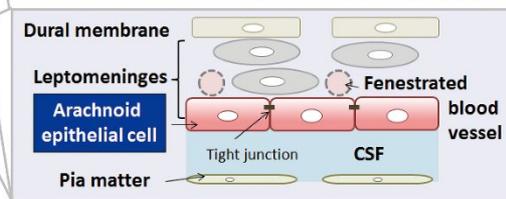


図1 4つの中枢関門

脳領域および脊髄領域の血管がそれぞれ血液脳関門および血液脊髄関門を形成する。脳室の脈絡叢が血液脳脊髄液関門を形成する。脳・脊髄の周囲の脳脊髄液を取り囲むクモ膜が血液クモ膜関門を形成する。

2. 研究の目的

網羅的定量プロテオミクス SWATH 法をもとに網羅的かつ高精度にタンパク質の絶対発現量を決定できる新規手法を開発し、血液脳関門を含めた中枢関門の物質輸送に寄与する輸送担体を新規に同定・定量し、機能解析を行うことによって、中枢における薬物及び内因性物質の動態の制御機構の全容を解明することを目的とした。ヒトを対象とした研究が重要であることから、ヒト倫理委員会の承認のもと、美原記念病院ブレインバンクからヒトの中枢組織をご提供いただき、研究を実施した。

3. 研究の方法

ラット、ブタあるいはヒトの中枢組織から、脳毛細血管（血液脳関門）、脊髄毛細血管（血液脊髄関門）、軟髄膜（血液クモ膜関門）、脈絡叢（血液脳脊髄液関門）を単離し、網羅的な定量プロテオミクスである2種類の方法（SWATH法および独自開発したqGAP法）を用いて、網羅的に輸送担体を探索・同定・定量した。標的定量プロテオミクスである独自のqTAP法を用いて、高精度に標的タンパク質の絶対発現量を決定した。機能解析は、該当遺伝子の強制発現細胞株、ノックダウン細胞株（ヒト脳毛細血管内皮細胞株を用いて）および実験動物を用いて実施した。その他の実験・解析については、下記の研究成果の項に記載の通りである。

4. 研究成果

(1) quantitative Global Absolute Proteomics (qGAP)法の開発

膜蛋白質を中心に複数のタンパク質の絶対発現量を一斉かつ高感度に測定できる定量系を構築することを目的とした。ブタおよびヒトの脳血管、肝臓、腎臓および小腸の細胞膜画分を調製し、それらをトリプシン消化し、等電点電気泳動装置を用いて12分画した。PBI社製の超高压抽出システムパロサイクラーを購入し、pressure cycling技術を用いて、タンパク質を効果的に可溶化・変性およびトリプシン消化する処理方法を導入した。各組織試料について、12分画されたペプチド試料をLC-MS/MS (TripleTOF5600) のdata dependent acquisition (ショットガン) モードで測定した結果、約1万2千種類のタンパク質のペプチドのLC保持時間、MS/MSスペクトルおよびアミノ酸配列・タンパク質名の情報を収載したSWATH assay libraryを構築できた。ブタおよびヒトの組織のSWATH測定を行い、このlibraryを用いて解析した結果、約8千タンパク質も定量できた。この結果は、ショットガン測定などによる従来のプロテオミクス技術（定量タンパク数：1~2千タンパク質）に比べて、網羅性の点で飛躍的な進歩である（図2）。特に、膜タンパク質を効果的に定量するためには、試料の調製段階で、可溶化剤としてグアニジン塩酸を使用することが重要であることが分かった。

SWATH法の改良検討を行った結果、網羅的に、タンパク質絶対発現量を決定することのできる「quantitative Global Absolute Proteomics (qGAP)法」を開発することに成功した。内田らは、独自に、高精度かつ高感度なペプチドを選択するクライテリアを構築していた。このペプチド選択クライテリアに基づいて選ばれたペプチドであれば、同じ量をLC-MS/MSにインジェクションした場合、同程度のピーク面積を与えることができることを見出した。これを適用した結果、SWATH法で測定される無数のペプチドの中から、この基準を満たすペプチドを選別し、定量解析に用いることによって、網羅的に、タンパク質の絶対発現量を決定することが証明された。これを「quantitative Global Absolute Proteomics (qGAP)法」と名付けた。数千種類のタンパク質を絶対定量できる。細胞膜画分を対象とした実験を行うことで、細胞膜上の膜タンパク質の存在量を一挙に解明できることが示された（図2）。

	ショットガン法 (従来法)	SWATH法 Gillet et al., <i>Mol Cell Proteomics</i> , 11, O111.016717, 2012	網羅的タンパク質 絶対定量法 qGAP法 H29 日本薬物動態学会 最優秀発表賞受賞	標的タンパク質 絶対定量法 qTAP法 Uchida et al., <i>FBCNS</i> , 10(1), 2013, 21
一度に定量可能なタンパク数	1000	数千~1万	数千~1万	~100
(1つの生物種が持つ全2万種類のタンパク質のうち)				
およその定量感度	> 100 fmol/μg protein	> 1 fmol/μg protein	> 1 fmol/μg protein	> 0.1 fmol/μg protein
(トランスポーターの存在量レンジは、> 1 fmol/μg protein)				
定量精度	×	◎	◎	◎◎
相対・絶対定量の可否	相対のみ	相対のみ	相対・絶対	相対・絶対

図2 代表者らが開発した定量プロテオミクス技術と従来法との比較
qGAP, quantitative Global Absolute Proteomics. qTAP, quantitative Targeted Absolute Proteomics

(2) 血液脳関門における輸送機構の解析

脳毛細血管の膜画分を調製し、qGAP 法及び SWATH 法を用いて、血液脳関門に発現するトランスポートターの探索を行った。その結果、複数の膜タンパク質が候補として同定された。また、膜貫通部位数などの構造的情報を組み合わせることによって、機能未知の膜タンパク質をトランスポーター候補として絞り込んだ。候補トランスポーターについて、ヒト脳毛細血管内皮細胞株 (hCMEC/D3 細胞) におけるタンパク質絶対発現量を決定した。強制発現細胞の構築が完了し、輸送解析を行った結果、薬物を含む有機物を輸送することが示された。FATP1 は、中枢活動に必要なドコサヘキサエン酸、ビオチン及びタウリンを輸送することが示された。脳毛細血管内皮細胞の abluminal membrane 上に発現し、中枢へのこれらの供給を担うこと、またアルツハイマー病で脳内蓄積するアミロイド ペプチドの刺激によってその供給活性が低下することが示された。アルツハイマー病では、ドコサヘキサエン酸の脳内濃度の低下が起きるが、この FATP1 の機能障害が原因の一つである可能性がある。SMVT は、luminal membrane に発現することが示され、また、ビオチン及びパントテン酸の血液側からの取り込み輸送に寄与することが hCMEC/D3 細胞を使ったノックダウン実験で明らかとなった。プロテオミクスに基づく網羅的探索・定量手法の開発によって、Claudin-11 や CD46 がヒト血液脳関門における密着結合や高分子の輸送に寄与することを新規に明らかにした。

(3) 血液クモ膜関門、血液脳脊髄液関門および血液脊髄関門における輸送機構の解析

血液脳関門に加えて、中枢組織の広範囲の外表面を覆う血液クモ膜関門についても網羅的にトランスポーターの探索・定量を行ったところ、OAT1、OAT3、MATE1、OCT2 などの多くの薬物輸送トランスポーターがタンパク質レベルで発現することを初めて明らかにし、さらに、それらが高発現するという興味深い結果を得た。OAT1 および OAT3 については、有機アニオン性物質の脳脊髄液からの排泄に関与することが in vivo (大槽内投与) 実験によって示された。血液クモ膜関門は脳脊髄液全体の約 8 割と接しており、脈絡叢が支配する脳室内の脳脊髄液の体積 (約 2 割) よりも顕著に大きい。従って、上記の結果は、血液脳関門に加えて血液クモ膜関門も中枢組織の薬物濃度の制御に重要な役割を担っていることを示唆している。

前述のとおり、血液クモ膜関門におけるトランスポーターを同定していたが、関門の実態であるクモ膜上皮細胞の脳脊髄液側・血液側のどちらの細胞膜に局在するか否かが不明であったため、抗体を用いずに、複数のトランスポーターの局在を一齐に推定する方法を開発し、適用した結果、14 種類のトランスポーターの局在を決定できた。具体的には、OAT1、OAT3 が脳脊髄液側細胞膜に局在することを示し、中枢から循環血液方向へ有機アニオンを輸送することを示唆した。MATE1 が血液側、OCT2 が脳脊髄液側細胞膜に局在することを示し、有機カチオンのベクトリアル輸送を行う機構があることを示唆した。有機カチオンであるクレアチニンは、中枢組織内で毎日大量に生成され、その蓄積は神経毒性を有することから、中枢組織からの消失機構の存在が示唆されていた。しかし、血液脳関門や血液脳脊髄液関門はその消失を担わない。血液クモ膜関門の MATE1/OCT2 が重要な役割を果たすと考えられる。さらに、有機カチオン性薬物であるメトフォルミンをラットに投与すると、血漿中濃度に比べて脳脊髄液中濃度が約 15 倍も高いことが報告されていた (Pharmacol Rep. 2010. 62(5):956-965)。これは、MATE1 と OCT2 による強力なベクトリアル供給輸送によって血液中から脳脊髄液へ移行した結果であると考えられる (図 3)。

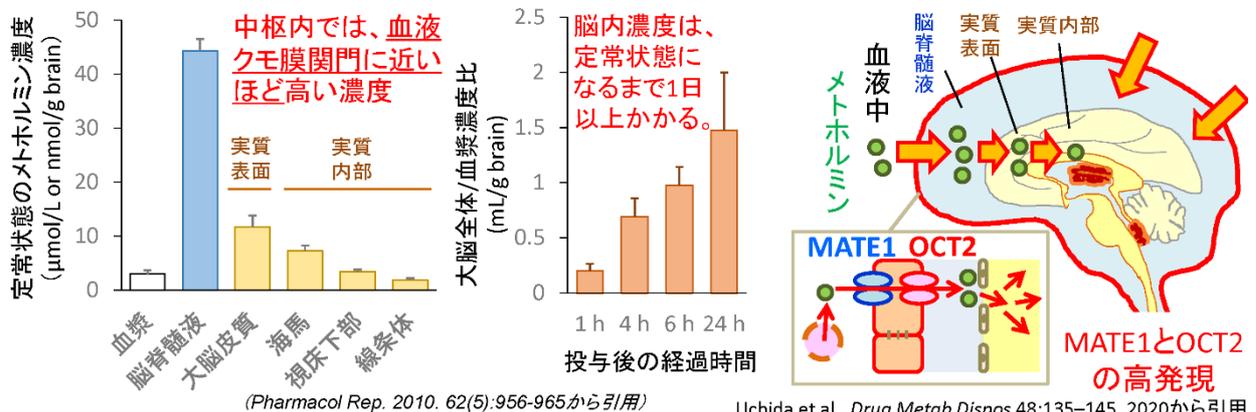


図3 血液クモ膜関門の有機カチオントランスポーターが中枢への薬物送達ルートになることが期待される

脳一個あたりの絶対発現量で比べた場合、クモ膜におけるトランスポーターの多くは、脈絡叢(血液脳脊髄液関門)のそれらに比べて極めて大きく、脳脊髄液における薬物動態に対して、血液脳脊髄液関門よりも血液クモ膜関門が大きく寄与していることが示唆された(図4)。

中枢組織の血管における輸送機構の部位差を解析するために、ヒトの大脳皮質、白質および脊髄(胸髄)から脳血管を高純度に単離し、独自の、標的絶対定量プロテオミクス(qTAP法)によって輸送担体分子を高精度に絶対定量した。その結果、INSRやLRP1は、脳皮質に比べて白質や脊髄の血管では、発現量が極めて少ないことが示され、INSRのモノクローナル抗体の脳移行性の部位差の報告(*Mol. Pharm.* 2017, 14, 1271-1277)を反映していた(図5)。

さらに、発現量の単位を、組織1gあたりのmoleや血管の表面積当たりのmoleに変換することで、これまで説明できなかった、顕著な薬物脳移行性の種差を説明できるようになった。一例として、altanserinやGR205171のKp,uu,brainはラットに比べてそれぞれヒトで約21倍および約6倍高いことが報告されている(*Drug Discov Today* 2018, 23(7), 1357-1372; *Drug Metab Dispos* 2009, 37(3), 635-643)。薬物速度論に基づくと、排出輸送トランスポーターの発現量によって定常状態の脳内薬物分布量を説明するためには、血管の表面積当たりのmoleの単位で発現量を表すことが最適である。この単位において、排出トランスポーターであるP-gpおよびBCRPの発現量は、ラットに比べてヒトでそれぞれ約10倍および約5倍小さいことから、およそその範囲としてKp,uu,brainの種差をこの発現量の種差で説明できるようになった(図6)。これは、定量プロテオミクスを薬物動態に応用するときは、最適な単位を選択することの重要性を示唆している。

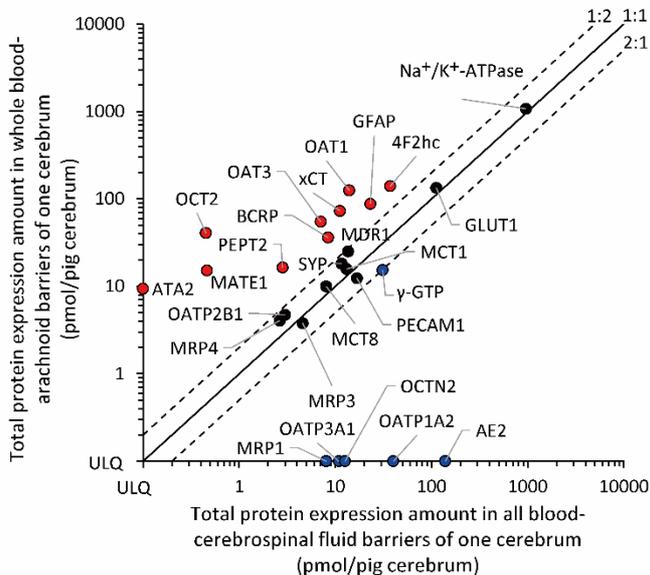
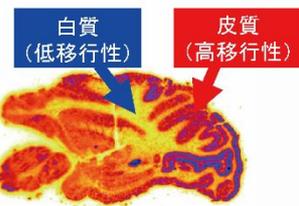
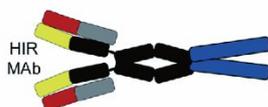


図4 プタの大脳一つにおける血液クモ膜関門(BAB)と血液脳脊髄液関門(BCSFB)のトランスポータータンパク質発現量の違い

Uchida et al., *Drug Metab Dispos* 48:135-145, 2020および Uchida et al., *Proteome Letters*, 2020 (Accepted)から引用。

インスリン受容体に対するヒト型モノクローナル抗体



サル脳、オートラジオグラフィー
Mol. Pharm. 2017, 14, 1271-1277より引用

Uchida et al., *Mol. Pharm.* 2020 (Accepted)より引用

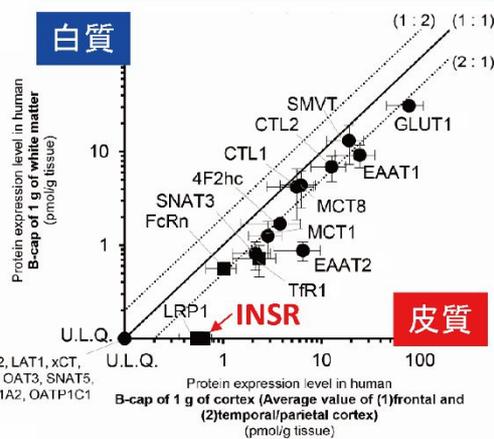


図5 皮質と白質の間の輸送担体タンパク質の発現量の比較およびサルにおける抗インスリン受容体抗体の脳内分布

Uchida et al., *Mol. Pharm.* 2020 (Accepted)より引用

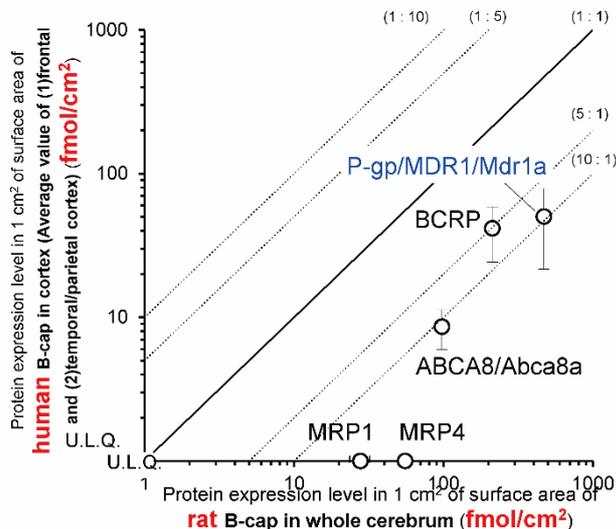


図6 血管の単位表面積あたりの排出輸送トランスポーターの発現量の種差

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計29件（うち査読付論文 24件 / うち国際共著 10件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Y Uchida	4. 巻 1
2. 論文標題 Physiological and pharmacological roles of “Blood-Arachnoid Barrier”, a new interface of central nervous system: Importance of quantitative proteomics to open up a new world	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proteome Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 内田康雄	4. 巻 12286
2. 論文標題 4つの中枢関門の分子機構の解明に基づくヒトの脳内薬物濃度の予測と中枢疾患の新たな創薬フィールドの開拓	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 薬事日報	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y Uchida, Y Yagi, M Takao, M Tano, M Umetsu, S Hirano, T Usui, M Tachikawa, and T Terasaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparison of absolute protein abundances of transporters and receptors among blood-brain barriers at different cerebral regions and blood-spinal cord barrier in human and rat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Pharm	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 内田康雄、白井拓也、寺崎哲也	4. 巻 271(1)
2. 論文標題 中枢疾患時の血液脳関門P糖タンパク質の機能変動機構の解明と中枢関門創薬への新展開	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 104-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Yasuo, Goto Ryohei, Takeuchi Hina, Luczak Magdalena, Usui Takuya, Tachikawa Masanori, Terasaki Tetsuya	4. 巻 48
2. 論文標題 Abundant Expression of OCT2, MATE1, OAT1, OAT3, PEPT2, BCRP, MDR1, and xCT Transporters in Blood-Arachnoid Barrier of Pig and Polarized Localizations at CSF- and Blood-Facing Plasma Membranes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Disposition	6. 最初と最後の頁 135 ~ 145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/dmd.119.089516	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hoshi Yutaro, Uchida Yasuo, Kuroda Takashi, Tachikawa Masanori, Couraud Pierre-Olivier, Suzuki Takashi, Terasaki Tetsuya	4. 巻 -
2. 論文標題 Distinct roles of ezrin, radixin and moesin in maintaining the plasma membrane localizations and functions of human blood?brain barrier transporters	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0271678X19868880	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Prasad Bhagwat, Achour Brahim, Artursson Per, Hop Cornelis E.C.A., Lai Yurong, Smith Philip C., Barber Jill, Wisniewski Jacek R., Spellman Daniel, Uchida Yasuo, Zientek Michael A., Unadkat Jashvant D., Rostami Hodjegan Amin	4. 巻 106
2. 論文標題 Toward a Consensus on Applying Quantitative Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Proteomics in Translational Pharmacology Research: A White Paper	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Pharmacology & Therapeutics	6. 最初と最後の頁 525 ~ 543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpt.1537	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato Kazuki, Tachikawa Masanori, Watanabe Michitoshi, Uchida Yasuo, Terasaki Tetsuya	4. 巻 42
2. 論文標題 Selective Protein Expression Changes of Leukocyte-Migration-Associated Cluster of Differentiation Antigens at the Blood?Brain Barrier in a Lipopolysaccharide-Induced Systemic Inflammation Mouse Model without Alteration of Transporters, Receptors or Tight Junction-Related Protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 944 ~ 953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b18-00939	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ochiai Yusuke, Uchida Yasuo, Tachikawa Masanori, Couraud Pierre Olivier, Terasaki Tetsuya	4. 巻 150
2. 論文標題 Amyloid beta25 35impairs docosahexaenoic acid efflux by down regulating fatty acid transport protein 1 (FATP1/SLC27A1) protein expression in human brain capillary endothelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 385 ~ 401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.14722	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hoshi Yutaro, Uchida Yasuo, Tachikawa Masanori, Ohtsuki Sumio, Couraud Pierre-Olivier, Suzuki Takashi, Terasaki Tetsuya	4. 巻 40
2. 論文標題 Oxidative stress-induced activation of Abl and Src kinases rapidly induces P-glycoprotein internalization via phosphorylation of caveolin-1 on tyrosine-14, decreasing cortisol efflux at the blood?brain barrier	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism	6. 最初と最後の頁 420 ~ 436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0271678X18822801	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato Kazuki, Tachikawa Masanori, Watanabe Michitoshi, Miyauchi Eisuke, Uchida Yasuo, Terasaki Tetsuya	4. 巻 16
2. 論文標題 Identification of Blood-Brain Barrier-Permeable Proteins Derived from a Peripheral Organ: In Vivo and in Vitro Evidence of Blood-to-Brain Transport of Creatine Kinase	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 247 ~ 257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00975	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuroda Hiroki, Tachikawa Masanori, Yagi Yuta, Umetsu Mina, Nurdin Armania, Miyauchi Eisuke, Watanabe Michitoshi, Uchida Yasuo, Terasaki Tetsuya	4. 巻 16
2. 論文標題 Cluster of Differentiation 46 Is the Major Receptor in Human Blood Brain Barrier Endothelial Cells for Uptake of Exosomes Derived from Brain-Metastatic Melanoma Cells (SK-Mel-28)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 292 ~ 304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00985	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Y, Sumiya T, Tachikawa M, Yamakawa T, Murata S, Yagi Y, Sato K, Stephan A, Ito K, Ohtsuki S, Couraud PO, Suzuki T, Terasaki T	4. 巻 56(3)
2. 論文標題 Involvement of Claudin-11 in Disruption of Blood-Brain, -Spinal Cord, and -Arachnoid Barriers in Multiple Sclerosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol.	6. 最初と最後の頁 2039-2056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-018-1207-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 内田康雄	4. 巻 55
2. 論文標題 次世代型定量プロテオミクスに基づく中枢関門の新規密着結合分子の同定および多発性硬化症の中枢関門破綻への関与	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 320-324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 内田康雄	4. 巻 78
2. 論文標題 SWATH-MS法って何? 優れた定量精度・感度・網羅性を兼ね備えた次世代型定量プロテオミクス	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 薬剤学「最近のトピックス」	6. 最初と最後の頁 228-234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki K, Tachikawa M, Uchida Y, Hirano S, Kadowaki F, Watanabe M, Ohtsuki S, Terasaki T	4. 巻 15
2. 論文標題 ATP-binding cassette transporter A subfamily 8 is a sinusoidal efflux transporter for cholesterol and taurocholate in mouse and human liver	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol Pharm	6. 最初と最後の頁 343-355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00679	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Z, Tachikawa M, Uchida Y, Terasaki T	4. 巻 15
2. 論文標題 Drug clearance from cerebrospinal fluid mediated by organic anion transporters 1 (Slc22a6) and 3 (Slc22a8) at arachnoid membrane of rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol Pharm	6. 最初と最後の頁 911-922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00852	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ochiai Y, Uchida Y, Ohtsuki S, Tachikawa M, Aizawa S, Terasaki T	4. 巻 141
2. 論文標題 The blood-brain barrier fatty acid transport protein 1 (FATP1/SLC27A1) supplies docosahexaenoic acid to the brain, and insulin facilitates transport	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Neurochem	6. 最初と最後の頁 400-412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.13943	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hoshi Y, Uchida Y, Tachikawa M, Ohtsuki S and Terasaki T	4. 巻 141
2. 論文標題 Actin filament-associated protein 1 (AFAP-1) is a key mediator in inflammatory signaling-induced rapid attenuation of intrinsic P-gp function in human brain capillary endothelial cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Neurochem	6. 最初と最後の頁 247-262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.13960	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Z, Uchida Y, Hirano S, Ando D, Kubo Y, Auriola S, Akanuma S, Hosoya K, Urtti A, Terasaki T, Tachikawa M	4. 巻 14
2. 論文標題 Inner blood-retinal barrier dominantly expresses breast cancer resistance protein: Comparative quantitative targeted absolute proteomics (QTAP) study of CNS barriers in pig	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Pharm	6. 最初と最後の頁 3729-3738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00493	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計52件（うち招待講演 16件 / うち国際学会 9件）

1. 発表者名 内田康雄（日本薬学会奨励賞受賞講演）
2. 発表標題 定量プロテオミクスに基づく血液脳関門の輸送機能および病態変動機構の解明
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白井拓也、内田康雄、後藤諒平、三城智人、田野光敏、高尾昌樹、寺崎哲也
2. 発表標題 定量プロテオミクスを用いたヒト脈絡叢における膜タンパク質の網羅的発現解析
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤理沙、内田康雄、大森広太郎、梅津美奈、Gerald Grant、Brenda Porter、Anthony Bet、立川正憲、白井拓也、寺崎哲也
2. 発表標題 SWATH定量プロテオミクスに基づくヒト小児てんかんの焦点部位における血液脳関門と脳実質組織の病態変動機構の網羅的解明
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内妃奈、内田康雄、後藤諒平、白井拓也、田野光敏、高尾昌樹、寺崎哲也
2. 発表標題 定量プロテオミクスによるヒト血液クモ膜関門における薬物輸送担体及び薬物代謝酵素の発現量解析
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Y Uchida
2. 発表標題 Key Issues and Our Solutions in Transporter Proteomics
3. 学会等名 The Seminar of University of Eastern Finland, School of Pharmacy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y Uchida
2. 発表標題 Blood-brain barrier P-glycoprotein activation as a new potential therapy of brain infarct
3. 学会等名 34th JSSX annual conference (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 Next generation quantitative proteomics “SWATH-MS法”
3. 学会等名 東京大学大学院薬学系研究科セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笠森なな、内田康雄、寺崎哲也
2. 発表標題 (永井財団大学院学生スカラシップ採択) 網羅的かつ高精度なトランスポーター基質探索に向けたカクテル輸送実験におけるSWATH一斉定量法の評価
3. 学会等名 日本薬学会第34年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤諒平、内田康雄、竹内妃奈、Magdalena Luczak、白井拓也、立川正憲、寺崎哲也
2. 発表標題 (口頭発表部門で優秀発表賞を受賞) 脈絡叢と脳軟髄膜の標的プロテオミクス解析：ブタ1 頭あたりの脈絡叢と脳軟髄膜におけるトランスポータータンパク質の発現量解析と膜タンパク質の膜局在の網羅的解明
3. 学会等名 第41回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤理沙、内田康雄、大森広太郎、梅津美奈、Gerald Grant、Brenda Porter、Anthony Bet、立川正憲、白井拓也、寺崎哲也
2. 発表標題 薬剤耐性型てんかん患者の血液脳関門で薬物代謝酵素が発現上昇する。
3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内妃奈、内田康雄、後藤諒平、Magdalena Luczak、白井拓也、寺崎哲也
2. 発表標題 ブタ血液クモ膜関門におけるトランスポーター13分子の局在一斉解明
3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R Sato, Y Uchida, K Omori, M Umetsu, G Grant, B Porter, A Bet, M Tachikawa, T Usui, and T Terasaki
2. 発表標題 Anti-epileptic drug metabolizing enzymes are upregulated at the blood-brain barrier in pharmacoresistant childhood epilepsy: SWATH-based comprehensive quantitative proteomic study
3. 学会等名 34th JSSX annual conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H Takeuchi, Y Uchida, R Goto, M Luczak, T Usui and T Terasaki
2. 発表標題 (英語口頭発表部門で優秀口頭発表賞を受賞(47演題中4演題)学部4年生が受賞するのは快挙)OCT2 protein is expressed in CSF side of the porcine blood-arachnoid barrier, while MATE1 is in blood side: Application of qTAP to transporter localization
3. 学会等名 34th JSSX annual conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平野誠巳, 内田康雄, 梅津美奈, 後藤諒平, 八木悠太, 立川正憲, 田野光敏, 高尾昌樹, 寺崎哲也
2. 発表標題 膜タンパク質に対する網羅的なタンパク質絶対定量法 “QGAP 法 ” の開発：ヒト血液脳関門における網羅的な絶対発現量アトラス
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八木悠太, 内田康雄, 梅津美奈, 平野誠巳, 立川正憲, 田野光敏, 高尾昌樹, 寺崎哲也
2. 発表標題 (最優秀発表賞) 定量プロテオミクスによるヒト血液脳関門における膜タンパク質の定量的発現プロファイルの解明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Uchida Y
2. 発表標題 Membrane Enrichment and Sample Preparation for Targeted Proteomics
3. 学会等名 ISSX Workshop on LC-MS proteomics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H Sasaki, Y Uchida, M Tachikawa, T Terasaki
2. 発表標題 (口頭発表に選抜された) Usefulness of Pressure Cycling Technology-assisted sample process for accurate and comprehensive quantitative proteomics using FFPE section; application for ADME-related proteins
3. 学会等名 第33回日本薬物動態学会・MDO国際合同年会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M Umetsu, Y Uchida, S Hirano, M Takao, M Tachikawa, T Terasaki
2. 発表標題 Identification and absolute quantification of Transporters in the isolated human brain microvessels by next-generation quantitative proteomics SWATH-MS
3. 学会等名 第33回日本薬物動態学会・MDO国際合同年会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y Uchida, T Sumiya, M Tachikawa, T Yamakawa, S Murata, Y Yagi, K Sato, A Stephan, K Ito, S Ohtsuki, PO Couraud, T Suzuki, and T Terasaki
2. 発表標題 Identification of a novel tight junction protein “Claudin-11” at the four barriers of central nervous system and its involvement for the barrier breakdown in Multiple Sclerosis
3. 学会等名 第33回日本薬物動態学会・MDO国際合同年会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 Next generation quantitative proteomics “SWATH-MS法”
3. 学会等名 Mass Spectrometry and Proteomics 2018 (MSP2018)(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 SWATH-MSプロテオミクスによる網羅的かつ高精度なバイオマーカー探索と定量
3. 学会等名 第45回BMSコンファレンス (BMS2018) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 次世代型定量プロテオミクスに基づく中枢疾患創薬のための薬物中枢移行性の制御機構の解明と中枢移行性予測
3. 学会等名 武田薬品工業株式会社湘南研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 次世代型定量プロテオミクスSWATH法に基づく多発性硬化症の中枢関門の破綻メカニズムの解明
3. 学会等名 第40回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田康雄、住谷智仁、立川正憲、山川達也、村田将、八木悠太、佐藤和貴、伊藤克彰、大槻純男、Pierre-Olivier Couraud、鈴木貴、寺崎哲也
2. 発表標題 多発性硬化症における中枢関門の破綻への新規密着結合分子claudin-11の寄与の解明
3. 学会等名 日本薬学会第33年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木颯、内田康雄、立川正憲、寺崎哲也
2. 発表標題 (最優秀発表賞) Pressure Cycling Technologyを用いたホルマリン固定パラフィン包埋切片プロテオミクス定量系の確立
3. 学会等名 日本薬学会第33年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木颯、内田康雄、立川正憲、寺崎哲也
2. 発表標題 Pressure Cycling Technologyを用いたホルマリン固定パラフィン包埋切片プロテオミクス定量系の薬物関連タンパク質への応用
3. 学会等名 第40回 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八木悠太、内田康雄、立川正憲、寺崎 哲也
2. 発表標題 ラット血液脊髄関門と血液脳関門におけるトランスポータータンパク質発現量の類似性と相違性の解明
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平野誠巳、内田康雄、立川正憲、後藤諒平、寺崎哲也
2. 発表標題 細胞膜分画、SWATH及び高精度ペプチド選択を組み合わせた膜タンパク質のApical/Basolateral膜局在と絶対発現量の網羅的推定法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤諒平、内田康雄、立川正憲、平野誠巳、張正宇、寺崎哲也
2. 発表標題 (優秀発表賞受賞) プタ脈絡叢と脳軟髄膜の網羅的・標的プロテオミクス解析：OATP1A2、OCT2及びMATE1の発現局在とCSF中薬物動態における役割
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Uchida Y
2. 発表標題 LC-MS/MS-based research for Blood-Brain Barrier and Malignant Brain Tumor
3. 学会等名 Seminar in Institute for Research in Biomedicine, University of Barcelona (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Uchida Y, Hoshi Y, Tachikawa M, Ohtsuki S, Terasaki T
2. 発表標題 Investigation of the regulatory mechanism of blood-brain barrier P-glycoprotein transport function toward brain stroke/infarct therapy
3. 学会等名 BioMedical Transporters 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 血液脳関門のP糖タンパク質の輸送機能の制御メカニズム
3. 学会等名 第12回トランスポーター研究会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 張正宇、内田康雄、平野誠巳、安藤大介、久保義行、 Seppo Auriola、赤沼伸乙、立川正憲、細谷健一、Arto Urtti、寺崎哲也
2. 発表標題 (最優秀発表賞受賞) プタBRB, BBB及びBCSFBの輸送担体の絶対発現量解析: BCRPの重要性
3. 学会等名 日本薬剤学会第32年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内田康雄、星裕太郎、立川正憲、大槻純男、寺崎哲也
2. 発表標題 脳虚血性疾患の治療に向けた血液脳関門P-gp輸送機能の制御機構の解明
3. 学会等名 日本薬剤学会第32年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平野誠巳、内田康雄、立川正憲、後藤諒平、寺崎哲也
2. 発表標題 (優秀口頭発表賞受賞) Development of label free comprehensive absolute quantification method by SWATH-MS combined with in silico peptide selection criteria ~Its application for the hepatic drug delivery~
3. 学会等名 日本薬物動態学会第32回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 後藤諒平、内田康雄、立川正憲、平野誠巳、張正宇、寺崎哲也
2. 発表標題 OUTER blood-CSF barrier (arachnoid membrane) abundantly expresses OAT1, OAT3, PEPT2 and BCRP proteins as compared to INNER blood-CSF barrier (choroid plexus)
3. 学会等名 日本薬物動態学会第32回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 八木悠太、立川正憲、内田康雄、寺崎哲也
2. 発表標題 Proteomics based characterization of the blood-spinal cord barrier transporters in rats: Comparison with the blood-brain barrier
3. 学会等名 日本薬物動態学会第32回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内田康雄、星裕太郎、立川正憲、大槻純男、寺崎哲也
2. 発表標題 (優秀口頭発表賞受賞) Blood-brain barrier P-glycoprotein activation strategy as a new therapy of brain infarct
3. 学会等名 日本薬物動態学会第32回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平野誠巳、内田 康雄、立川 正憲、後藤諒平、寺崎 哲也
2. 発表標題 次世代型プロテオミクスSWATH法を用いた肝臓のトランスポーター群のタンパク質絶対発現量と局在の網羅的解析
3. 学会等名 第12回トランスポーター研究会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内田康雄、星裕太郎、立川正憲、大槻純男、 寺崎哲也
2. 発表標題 血液脳関門P糖タンパクのin vivo輸送機能の病態変動に“ 寄与 ”する分子機構の解明戦略：酸化ストレス病態におけるAbl・Src kinasesの寄与
3. 学会等名 日本薬学会第137年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤和貴、立川正憲、渡部通寿、 内田康雄、寺崎哲也
2. 発表標題 網羅的定量プロテオミクスSWATH法を用いた血液脳関門透過型肝可溶性タンパク質の探索と輸送機構解明
3. 学会等名 日本薬学会第137年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 陳瓊芳、内田康雄、黒田広樹、梅津美奈、八木悠太、立川正憲、寺崎哲也
2. 発表標題 脳転移性メラノーマ細胞由来exosomesによるヒト脳毛細血管内皮細胞株hCMEC/D3のエネルギー代謝抑制制御
3. 学会等名 日本薬学会第137年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasuo Uchida, Kazuki Sato, Masanori Tachikawa, Tetsuya Terasaki
2. 発表標題 Discovery proteomics of blood-brain barrier permeable endogenous protein candidates
3. 学会等名 International Symposium on Drug Delivery and Pharmaceutical Sciences: Beyond the History (ISDDPS) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hoshi Y, Uchida Y, Tachikawa M, Ohtsuki S, Terasaki T
2. 発表標題 (世界第2位) Quantitative phosphoproteomics for the regulatory mechanism of blood-brain barrier P-glycoprotein: Oxidative stress-induced activation of Abl and Src kinases enhanced P-glycoprotein internalization
3. 学会等名 11th GPEN (The Globalization of Pharmaceutics Education Network) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 星 裕太郎、内田 康雄、立川 正憲、大槻 純男、寺崎 哲也
2. 発表標題 リン酸化プロテオミクスに基づくAbl 及びSrc kinases によるP-glycoprotein の内在化制御機構の解明
3. 学会等名 第11回トランスポーター研究会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 P-gp絶対発現量、単分子輸送活性および蛋白質非結合型分率の統合によるP-gp基質の脳移行性の再構築とその脳移行性の種差の要因分析
3. 学会等名 日本薬物動態学会 第10回ショートコース（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 内田康雄
2. 発表標題 Next generation quantitative proteomics “SWATH 法” の基礎と応用
3. 学会等名 第12回 東北大学学際科学フロンティア研究所FRIS セミナー（招待講演）
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Y Uchida, R Goto, T Usui, M Tachikawa and T Terasaki	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 -
3. 書名 Blood-arachnoid barrier as a dynamic physiological and pharmacological interface between cerebrospinal fluid and blood	

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室ホームページ(内田康雄)
<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~soutatsu/dds/profile/uchida.htm>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	アバーソルド ルーディー (Aebersold Ruedi)		
研究協力者	グラント ジェラルド (Grant Gerald)		
研究協力者	コウラウド ピエールオリビエ (Couraud Pierre-Olivier)		
研究協力者	ウルティ アルト (Urtti Arto)		
研究協力者	ルクザック マグダレナ (Luczak Magdalena)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	寺崎 哲也 (Terasaki Tetsuya) (60155463)	東北大学・薬学研究科・教授 (11301)	
連携研究者	高尾 昌樹 (Takao Masaki) (50245487)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	
連携研究者	立川 正憲 (Tachikawa Masanori) (00401810)	東北大学・薬学研究科・准教授 (11301)	