

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590213

研究課題名(和文) 麻薬性鎮痛薬の薬効を制御する血液脳関門輸送機構の解明

研究課題名(英文) The Blood-Brain Barrier Transport Mechanism Controlling Analgesic Effects of Opioid Drugs in the Central Nervous System

研究代表者

黄倉 崇 (Okura, Takashi)

帝京大学・薬学部・准教授

研究者番号：80326123

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：オキシコドンの効率的な血液脳関門輸送を担う有機カチオン/プロトンアンチポーターが、ヒト血液脳関門細胞で機能することを示した。オキシコドンに加え、弱オピオイドのトラマドールが有機カチオン/プロトンアンチポーターの基質となり、高い脳移行性を制御することを示した。またアポモルヒネの構造異性体を用いたインビトロおよびインビボの解析から、血液脳関門輸送系は構造異性体を区別することはないことが示唆されるとともに、血液脳関門の有機カチオン/プロトンアンチポーターがアポモルヒネのレスキュー治療薬としての速やかな薬効発現を制御することを示した。

研究成果の概要(英文)：The human blood-brain barrier cells have been shown to retain the proton-coupled organic cation antiporter, which is involved in efficient blood-to-brain transport of oxycodone. Further, tramadol, a weak opioid, was also actively transported into the brain across the blood-brain barrier by the proton-coupled organic cation antiporter. Both apomorphine enantiomers were efficiently transported into the brain with similar kinetic parameters. The proton-coupled organic cation antiporter is mediated efficient brain transport of apomorphine and it should be relevant to the rapid onset of pharmacological action of this rescue drug.

研究分野：薬物動態学

キーワード：血液脳関門 トランスポーター 有機カチオン

1. 研究開始当初の背景

麻薬性鎮痛薬のモルヒネとオキシコドンは類似化学構造を持つにもかかわらず、その血液脳関門透過性は大きく異なることが報告されていた。血液脳関門には有機カチオン/プロトンアンチポーターがオキシコドントランスポーターとして機能することを我々は提唱し、麻薬性鎮痛薬の薬効制御に重要な役割を果たす可能性が考えられた。しかし有機カチオン/プロトンアンチポーターの分子実体は未同定で、その基質認識性についても不明な点が多かった。

2. 研究の目的

上記背景を踏まえ、本研究では麻薬性鎮痛薬の薬効発現を制御する血液脳関門輸送機構を解明することを目指した。麻薬性鎮痛薬ならびに関連化合物について、ヒト血液脳関門細胞ならびにインビボ(実験動物)における輸送機構を明らかにすることを第1の目的とした。また輸送分子同定のため、ヒト血液脳関門モデル細胞におけるRNA干渉を用いた有機カチオン/プロトンアンチポーターの機能解析法の確立を第2の目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒト血液脳関門モデル細胞としてhCMEC/D3細胞を用い、ヒト血液脳関門における有機カチオン/プロトンアンチポーターの機能的役割について調べた。

(2) 麻薬性鎮痛薬(モルヒネ、オキシコドン、フェンタニル)、非麻薬性鎮痛薬(トラマドール)および構造異性体を持つアポモルヒネのヒト血液脳関門輸送ならびにそのメカニズムについて、hCMEC/D3細胞ならびにインビボ血液脳関門輸送実験を用いて調べた。

(3) 有機カチオン/プロトンアンチポーター分子同定を目指して、hCMEC/D3細胞における既知有機カチオン/プロトンアンチポーターのmRNA発現量を測定し、RNA干渉法による機能解析を行った。

4. 研究成果

(1) 有機カチオン/プロトンアンチポーターの基質であるジフェンヒドラミンおよびピリラミンのhCMEC/D3細胞への取り込みは、プロトン濃度勾配を駆動力とすることが示され、ヒト血機能関門においても実験動物と同様にオキシコドントランスポーターが機能することが示唆された。さらにhCMEC/D3細胞における取り込みクリアランスは、ヒトPET研究における脳取り込みクリアランスと同程度の値を示したことから、hCMEC/D3細胞を用いることにより、ヒトにおける脳移行機構の解明、さらにはヒト脳移行性の予測法確立にもつながることが示唆された。この成果は脳関門学の国際誌(雑誌論文リスト#5、

Fluids Barriers CNS)に公表し、高いアクセス数からもインパクトの大きさがうかがわれる。

(2) オキシコドン、モルヒネおよびフェンタニルのhCMEC/D3細胞内取り込みは、モルヒネに比べ、フェンタニルとオキシコドンで高値を示した。さらにトラマドールおよびアポモルヒネもhCMEC/D3細胞において効率的な取り込み輸送を示し、有機カチオン/プロトンアンチポーターがその輸送を担うことを示した。これらの成果は薬剤学の国際誌(雑誌論文リスト#2, J Pharm Sci)および日本薬学会の欧文誌(雑誌論文リスト#3, Biol Pharm Bull)に公表した。

またアポモルヒネにはエナンチオマー存在することから、エナンチオマー間で血液脳関門輸送を比較した。ラット脳への取り込み輸送ならびに脳からの排出輸送にエナンチオマー間での顕著な差はみられず、厳密な基質認識性を持つドパミン受容体とは異なることが示唆された。またアポモルヒネは効率的な脳移行性を示すことがインビボにおいても示され、レスキュー治療薬としての速やかな薬効発現に寄与することが示された。この成果は、国際薬物動態学会(2014年、サンフランシスコ)においてシンポジウム発表に選出され、高い関心を得た。

(3) hCMEC/D3細胞におけるsiRNA実験系の最適化により、有機カチオン/プロトンアンチポーターの機能解析系を構築することに成功した。既知有機カチオン/プロトンアンチポーターの中で高いmRNA発現量を示したOCTN2/SLC22A5のカルニチン/プロトンアンチポーターとしての機能を明らかにし、薬物動態学の国際誌(雑誌論文リスト#4, Drug Metab Pharmacokin)に公表した。RNA干渉法がヒト血液脳関門の輸送体機能解析に有用な方法となることを示した。またOCTN2/SLC22A5以外にも比較的mRNA発現量の高い有機カチオンを基質とする複数のトランスポーター分子が、有機カチオン/プロトンアンチポーターの候補分子として見出された。

また「麻薬性鎮痛薬の薬効を制御する血液脳関門輸送機構」というタイトルで薬学会シンポジウム発表するとともに薬学雑誌(雑誌論文リスト#1)にて公表し、モルヒネがP-糖タンパク質によって脳への移行が制限されるのに対し、オキシコドンは有機カチオン/プロトンアンチポーターによって積極的に脳内に取り込まれるという対照的な輸送機構(Fig. 1)は薬物動態学分野以外の研究者にも大きなインパクトを与えた。この血液脳関門輸送機構は、オキシコドンやトラマドールなどのオピオイド鎮痛薬に加えて、抗ヒスタミン薬をはじめとする多くのカチオン性中枢作用薬の脳移行を制御する。従って、今回得られた成果は麻薬性鎮痛薬による疼痛緩和において有用なばかりでなく、有機カチ

オン/プロトンアンチポーターを利用した新規中枢作用薬の開発にもつながると考えられる。

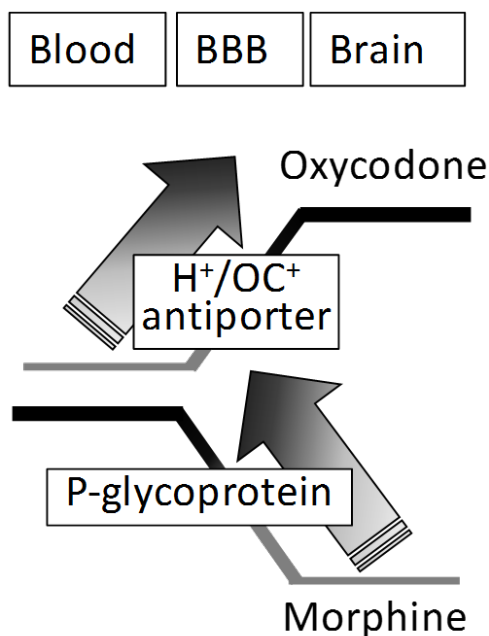


Fig. 1. Oxycodone and morphine transport across the blood-brain barrier

Oxycodone is actively transported into the brain across the blood-brain barrier (BBB) by a proton-coupled organic cation antiporter (H⁺/OC⁺ antiporter), in contrast to the P-glycoprotein-mediated brain-to-blood efflux transport of morphine. (雑誌論文リスト#1, 薬学雑誌より引用)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. 黄倉 崇、樋口 慧、出口芳春: 麻薬性鎮痛薬の中核効果を制御する血液脳関門輸送機構. 査読有, 薬学雑誌, 135:697-702 (2015)
2. Atsushi Kitamura, Kei Higuchi, Takashi Okura, Yoshiharu Deguchi: Transport characteristics of tramadol in the blood-brain barrier. 査読有, J. Pharm. Sci. 103, 3335-3341 (2014) doi: 10.1002/jps.24129.
3. Takashi Okura, Kei Higuchi, Atsushi Kitamura, Yoshiharu Deguchi: Proton-coupled organic cation antiporter-mediated uptake of apomorphine enantiomers in human brain capillary endothelial cell line hCMEC/D3. 査読有, Biol. Pharm. Bull. 37, 286-291 (2014)
4. Takashi Okura, Sayaka Kato, Yoshiharu

Deguchi: Functional expression of organic cation/carnitine transporter 2 (OCTN2/SLC22A5) in human brain capillary endothelial cell line hCMEC/D3, a human blood-brain barrier model. 査読有, Drug Metab Pharmacokinet. 29, 69-74 (2014)

5. Keita Shimomura, Takashi Okura, Sayaka Kato, Pierre-Olivier Couraud, Jean-Michel Schermann, Tetsuya Terasaki, Yoshiharu Deguchi: Functional expression of a proton-coupled organic cation (H⁺/OC) antiporter in human brain capillary endothelial cell line hCMEC/D3, a human blood-brain barrier model. 査読有, Fluids Barriers CNS. 10(1): 8 (2013) doi: 10.1186/2045-8118-10-8

[学会発表](計 9 件)

1. Takashi Okura, Kei Higuchi, Atsushi Kitamura, Yoshiharu Deguchi: IN VIVO AND IN VITRO TRANSPORT OF APOMORPHINE ENANTIOMERS ACROSS THE BLOOD-BRAIN BARRIER. [selected for oral presentation]. 19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Annual Meeting (San Francisco) October 19-23, 2014.
2. Atsushi Kitamura, Kei Higuchi, Takashi Okura, Yoshiharu Deguchi: N-IN-ONE ASSAY FOR ASSESSING DRUG DELIVERY TO THE BRAIN BY BRAIN MICRODIALYSIS. 19th North American ISSX Meeting and 29th JSSX Annual Meeting (San Francisco) October 19-23, 2014.
3. 黄倉 崇、樋口 慧、出口芳春: 麻薬性鎮痛薬の中核効果を制御する血液脳関門輸送機構. 日本薬学会第 134 年会(熊本)シンポジウム「麻薬性鎮痛薬による適切な疼痛緩和治療を目指した薬物トランスポーター研究の最前線」, 2014 年 3 月 29 日
4. Takashi Okura, Kei Higuchi, Atsushi Kitamura, Yoshiharu Deguchi: A proton-coupled organic cation antiporter mediated transport of apomorphine in human brain endothelial cell line hCMEC/D3. 第 7 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(仙台), 2013 年 11 月 24 日
5. Takashi Okura, Kei Higuchi, Atsushi Kitamura, Yoshiharu Deguchi: R(-)-Apomorphine transport into human brain endothelial cells by a proton-coupled organic cation antiporter. 第 28 回日本薬物動態学会年会(東京), 2013 年 10 月 9-11 日
6. 黄倉 崇、樋口 慧、出口芳春: ヒト血液脳関門におけるアポモルヒネのプロト

- ン交換輸送機構 .日本薬学会第 28 年会
(名古屋) 2013 年 5 月 23-25 日
7. 黄倉 崇、下村慶太、樋口 慧、Pierre-Oliver Couraud、出口芳春: ヒト脳毛細血管内皮細胞株 hCMEC/D3 を用いたカチオン性薬物のヒト血液脳関門透過性予測の試み . 日本動物実験代替学会第 25 回大会 (東京), 2012 年 12 月 8 日
 8. Takashi Okura, Yoshiharu Deguchi: Investigation of the organic cation/carnitine transporter in human brain endothelial cells by small interfering RNA. 第 27 回日本薬物動態学会年会 (東京) 2012 年 11 月 21 日
 9. 黄倉 崇、加藤清香、出口芳春: ヒト脳毛細血管内皮細胞株 (hCMEC/D3) を用いた有機カチオン/カルニチントランスポーターの機能解析 . 日本薬学会第 27 年会 (神戸), 2012 年 5 月 24 ~ 27 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黄倉 崇 (OKURA, TAKASHI)
帝京大学・薬学部・准教授
研究者番号: 80326123

(2) 研究分担者

出口 芳春 (DEGUCHI, YOSHIHARU)
帝京大学・薬学部・教授
研究者番号: 40254255

(3) 連携研究者