

学位請求論文要旨

血液脳関門機能低下マウスにおける
オセルタミビル[®]の脳移行性に対する葛根湯の作用

城西国際大学大学院 薬学研究科

医療薬学専攻

大原 厚祐

インフルエンザ感染症の罹患者数は世界で年間 300~500 万人に及びその約 1 割が死亡に至るとの報告がある¹⁾。インフルエンザ感染症は、一般的な「かぜ」とは異なり、重症化しやすく小児、高齢者および基礎疾患を有する患者では特に注意が必要である。そのため、予防や治療は重要であるが、ときに重篤な副作用を発症させ、社会問題化することがある²⁾。代表的なものに、世界初の抗 A・抗 B インフルエンザ治療薬であるタミフル® (オセルタミビルリン酸塩：OP) の異常行動がある。2005 年に異常行動との関連性が指摘され、2007 年に「10 代の患者が自宅で療養中、自宅マンションから転落死する」という内容を含む緊急安全性情報 (イエローレター) が配布された³⁾。これを契機に、OP と異常行動との関連性についての研究が数多く行われるようになったが、因果関係に関しては、現在に至っても一貫した結論は得られていない。一方、OP は、他の抗インフルエンザ治療薬よりも有効性・汎用性の点で優れており、10 代の未成年に対する OP の投与は原則禁忌であるものの、成人のインフルエンザ治療薬の第一選択となることが多い。また近年では 0 歳児にも保険適応となった。このことから、OP による異常行動を防ぐ手段の開発は、臨床価値がある。

OP は経口投与後、肝臓のカルボキシエステラーゼ (CES) によって活性体であるオセルタミビルカルボキシレート (OC) に代謝され、インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼを阻害しウイルスの成長を抑制する。この活性代謝物 OC は、基礎研究において、海馬神経興奮作用を有し⁴⁾、行動変化を引き起こすことが報告されており⁵⁾、異常行動発症の原因物質であると考えられる。しかし、物理化学的特性上、OC は水溶性であり脳へは移行しにくいはずである。

インフルエンザ感染症などの全身性炎症は、物質移行を制限している血液脳関門 (BBB) の機能低下を引き起こすことがある。Oshima らはリポポリサッカライド (LPS) 誘発 BBB 機能低下マウスに OP を経口投与すると OC の脳移行性が亢進することを明らかにした⁶⁾。これらのことから、OC は BBB 機能低下時に脳移行性が亢進し、これに伴い海馬神経が興奮して異常行動を発症する、といった仮説が成り立つ。すなわち、BBB 機能低下を抑制すれば、異常行動の発症リスクを低減できる可能性がある。

葛根湯は、感冒の治療に汎用される漢方薬である。古くから日本や中国において使用され、感冒と類似の臨床像を示すインフルエンザ感染症に対しても使われることがある。例えば、OP との併用効果について、患者を対象としたアンケート調査を行い、有熱時間の短縮や症状の早期改善が報告されている⁷⁾。一方で、OP と葛根湯の併用に関する基礎的研究はない。

そこで、本研究では異常行動の原因物質である OC の脳移行性に対して葛根湯がどのような影響を及ぼすのか種々観点から検討した。第 1 編では、OP・OC および水溶性モデル物質の脳移行性に対する葛根湯の作用について検討し、第 2 編では、BBB 機能、すなわち、タイトジャンクション (TJ) 関連タンパク質の量的変化、BBB 機能に影響する炎症性物質およびトランスポーター発現量に対する葛根湯の作用について調べた。

第1編 LPS 誘発 BBB 機能低下マウスにおける種々モデル物質の脳移行性に対する葛根湯併用の影響

第1章 OP 経口投与後の OP および OC 脳移行性に対する葛根湯併用の影響

本研究の実験プロトコールを Fig. 1 に示す。雄性 C57BL/6 マウス (8±1 週令) に LPS (3 mg/kg, 0.2 mL/ animal) を計 3 回腹腔内投与し、BBB 機能を低下させ、同時に投与された葛根湯 (0.125 g/kg, 0.1 mL/ animal) の効果を検証した。対照群として生理食塩液 (0.1 mL) を投与した。以下、前者を LK (LPS-Kakkonto) 群、後者を LS (LPS-Saline) 群とする。また、LPS および葛根湯の代替として生理食塩液を用いた群を SS (Saline-Saline) 群とする。

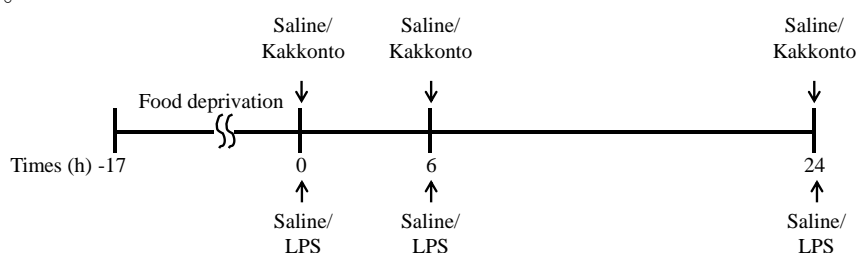


Fig. 1 Experimental protocol for the animal study.

Fig. 1 の 3 回目の LPS 投与から 4 時間後に OP (300 mg/kg) を経口投与し、そこから 5 分、60 分、120 分の血漿および脳を採取し、OP および OC 濃度を測定した。

血漿および脳中 OP 濃度は、LS 群と比較して LK 群で高値を示した (Fig. 2)。別に行った実験で、葛根湯の投与によって肝 CES 活性が低下傾向を示した。このことから、血漿および脳中 OP 濃度の上昇は代謝および吸収の増大に起因したものであると考えられた。また血漿中 OC 濃度は、LS 群と比較して LK 群では、5 分および 120 分で有意に高値を示し、脳中 OC 濃度は、LS 群と比較して低値を示した (Fig. 3)。OP および OC の AUC₀₋₁₂₀ の脳対血漿中濃度比 (BPR) は LS 群に比べて、それぞれ約 0.97 倍、約 0.23 倍であり (Table 1)、葛根湯投与は OP の脳移行性には影響を与えず、OC の脳移行性を抑制することが明らかとなった。これらのことから、葛根湯と OP の併用は、OC に起因した異常行動の発現リスクを減少させる方向に作用する可能性がある。

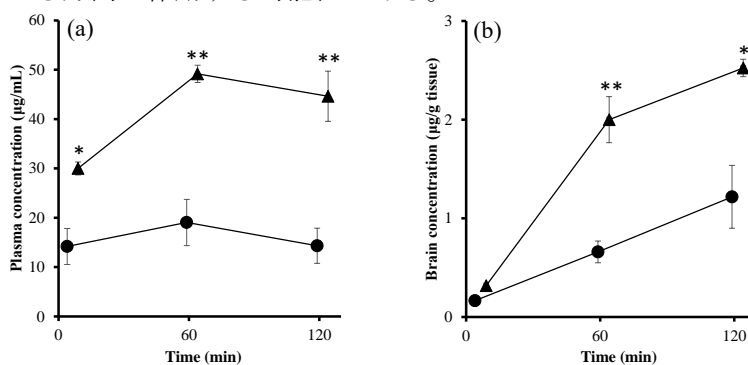


Fig. 2 Plasma (a) and Brain (b) concentrations versus time profiles of Oseltamivir phosphate (OP) after the oral administration of OP to mice with LPS induced inflammation. Data represent the means ± S.E.M. of 3-7 mice. * P < 0.05 and ** P < 0.01. Symbols: ●, LS group, ▲, LK group.

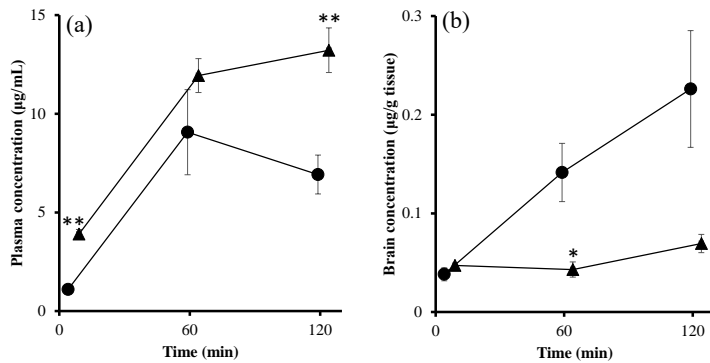


Fig. 3 Plasma (a) and Brain (b) concentrations versus time profiles of Oseltamivir carboxylate (OC) after the oral administration of OP to mice with LPS induced inflammation. Data represent the means \pm S.E.M. of 3-7 mice. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$. Symbols: ●, LS group, ▲, LK group.

Table 1 The AUC_{0-120} BPR of OP and OC following oral administration of OP to mice with LPS induced inflammation.

	BPR	
	OP	OC
LS	0.041	0.021
LK	0.040	0.005

第2章 OC 静脈内投与後のOC 脳移行性に対する葛根湯併用の影響

前章では、OP と葛根湯の併用により、OC の脳移行性が抑制されることを明らかにしたが、OP の経口投与の実験であるため、吸収および代謝の影響を排除できない。そこで、OC の脳移行性に対する葛根湯の作用にのみ焦点を当てるために、本章では OC の静脈内投与と葛根湯の併用実験を行った。3 回目の LPS 投与から 4 時間後に OC (20 mg/kg) を静脈内投与した。そこから 5 分、60 分、120 分の血漿および脳を採取し、OC 濃度を測定した。血漿中 OC 濃度は SS 群と比較して LS 群で 60 分および 120 分において有意に高値を示し、LS 群と LK 群の血漿中 OC 濃度の比較では、投与後 60 分において、LK 群で有意に低値を示した (Fig. 4 (a))。また、SS 群と LS 群の脳中 OC 濃度の比較では、投与後 60 分で高い傾向を示し、120 分で有意に高値を示した (Fig. 4 (b))。一方、LK 群では、SS 群とほぼ変わらない脳中濃度を示し、LS 群で認められた脳中濃度のばらつきを有意に低下させた (F-test : 5 min; $p = 0.023$, 60 min; $p = 0.036$, 120 min; $p = 0.008$) (Fig. 4 (b))。OC の AUC_{0-120} の BPR は、SS 群と比較して LS 群では 2.1 倍高値を示し、LS 群と比較して LK 群では 0.38 倍となった (Table 2)。このことから、葛根湯投与は、OC の静脈内投与実験においても、LPS 投与により増大した OC の脳移行を抑制することが明らかとなった。

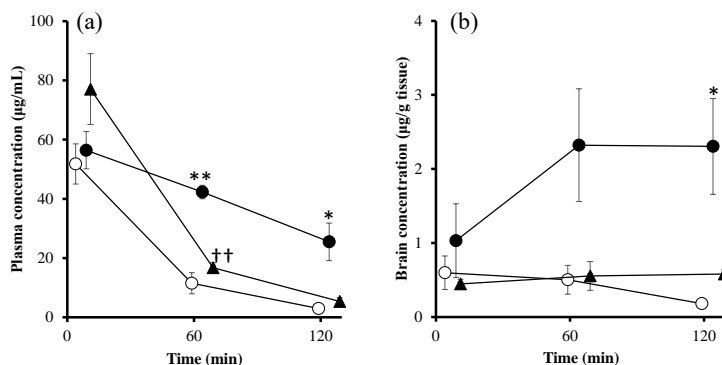


Fig. 4 Plasma (a) and Brain (b) concentrations versus time profiles of OC after the intravenous administration of OC to mice with LPS induced inflammation. Data represent the means \pm S.E.M. of 3-7 mice. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ (SS vs LS). †† $P < 0.01$ (LS vs LK). Symbols: ○, SS group, ●, LS group, ▲, LK group.

Table 2 The AUC_{0-120} BPR of OC following intravenous administration of OC to mice with LPS induced inflammation.

	BPR	
	AUC_{0-120}	BPR
SS	0.023	
LS	0.048	
LK	0.018	

第3章 水溶性モデル物質の脳移行性に対する葛根湯併用の影響

分子サイズの異なる水溶性物質の脳移行性を調べることで BBB 機能低下レベル、すなわち TJ 間隙経路の開口レベルを知ることができる。そこで、水溶性モデル物質としてエバンブルー (EB、アルブミンとして分子量 69,000)、フルオレセインイソチオシアネート-デキストラン (FD-4、分子量 4,200)、カルセイン (Cal、分子量 622.5) およびフルオレセインナトリウム (Flu、分子量 376.3) を用いた実験を行った。Fig. 5 は、3 回目の LPS 投与から 4 時間後に水溶性モデル物質を静脈内投与し、その 2 時間後の BPR である。EB、FD-4 および Cal の BPR は SS 群と比較して LS 群で有意に高値を示し、LK 群は LS 群と比較して有意に低い値を示し SS 群とほぼ変わらない値となった (Fig. 5 (a), (b), (c))。Flu の BPR は SS 群と比較して LS 群および LK 群で有意に高値を示し、LS 群と LK 群には差は認められなかった (Fig. 5 (d))。このことから、葛根湯は Flu レベル (分子量 376.3) の物質移行を制限するまでの BBB の機能低下抑制効果は持たず、Cal レベル (分子量 622.5) よりも大きな分子に対するバリアー能の維持効果を有していることが示唆された。すなわち、LPS による TJ の傷害を防いでいる可能性が示唆された。一方、前章において葛根湯は、Flu (分子量 376.3) よりも分子量の小さい OC (分子量 284.4) の脳移行性を抑制した。このことは、葛根湯による OC の脳移行性抑制効果は、TJ 間隙の拡張を抑える効果だけでは説明がつかない。OC は排出系トランスポーターである Multidrug Resistance-associated Protein 4 (MRP4) や Organic anion Transporter 3 (OAT3) の基質になることが知られていることから⁸⁾、葛根湯投与はこれらトランスポーター機能に影響を及ぼしていることも考えられる。

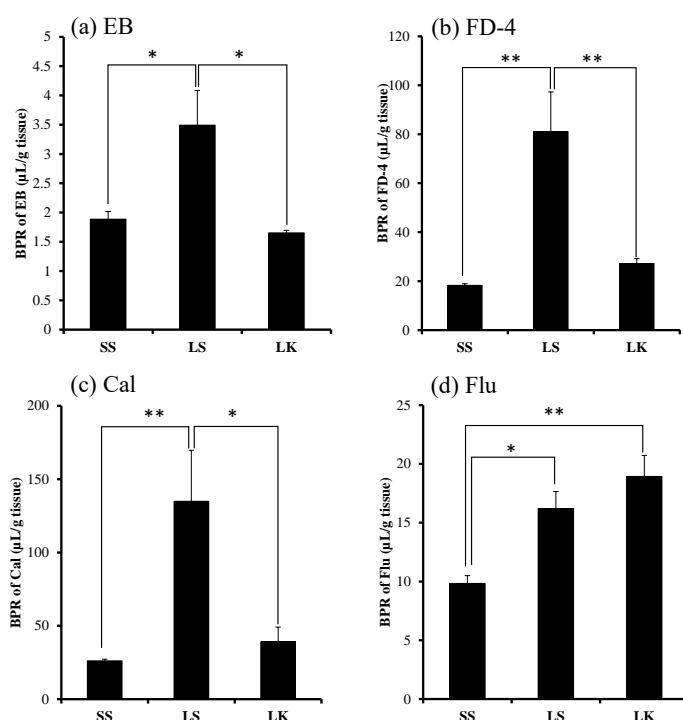


Fig. 5 Effect of Kakkonto administration on BBB integrity in mice with LPS-induced inflammation. Data represent the means \pm S.E.M. of 4-9 mice. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, Tukey-Kramer test.

第2編 葛根湯によるBBB機能低下抑制効果の検討

第1章 TJ関連タンパク質の発現量に対する葛根湯の作用

BBBのTJ関連タンパク質は細胞間隙の密着性を高めている。前編ではLPS投与によりTJ間隙が拡張し、これに葛根湯を投与することでTJ間隙の拡張が抑制された。すなわち、LPSおよび葛根湯はTJ関連タンパク質に作用し、BBB機能に影響している可能性がある。

3回目のLPS投与から4時間後のマウス脳毛細血管内皮細胞中のTJ関連タンパク質発現量をウェスタンブロット法により測定した。ZO-1発現量はSS群と比較してLS群で有意に低値を示し、Claudin-5発現量はSS群と比較してLS群で低い傾向にあったことから、第1編におけるLPS投与によるBBB透過性亢進は、これらTJ関連タンパク質の発現量低下も一因である可能性が示唆された (Fig. 6 (a) and (c))。また、Claudin-5発現量はLS群とLK群で変わらなかった (Fig. 6 (c))。一方、OccludinはLK群で上昇傾向を示した (Fig. 6 (b))。

BBBにおけるTJ関連タンパク質の中でClaudin-5が密着性に最も寄与し、分子量800 Da以下の物質に対する透過制御を担っていることが報告されている⁹⁾。LPS投与によって低下傾向を示したClaudin-5発現量を葛根湯が増加させなかったことは、Flu (分子量376.3)の脳移行性を抑制させなかったことと一致する。しかし、葛根湯によるCal (分子量622.5)の脳移行抑制についてはClaudin-5発現量では説明できない。総じて本章におけるZO-1、OccludinおよびClaudin-5の量的変化だけでは、第1編で生じた物質の脳移行性の変化、すなわちLPS投与により脳移行性が亢進し葛根湯がこれを抑制するという現象を十分に説明できるものではなかった。

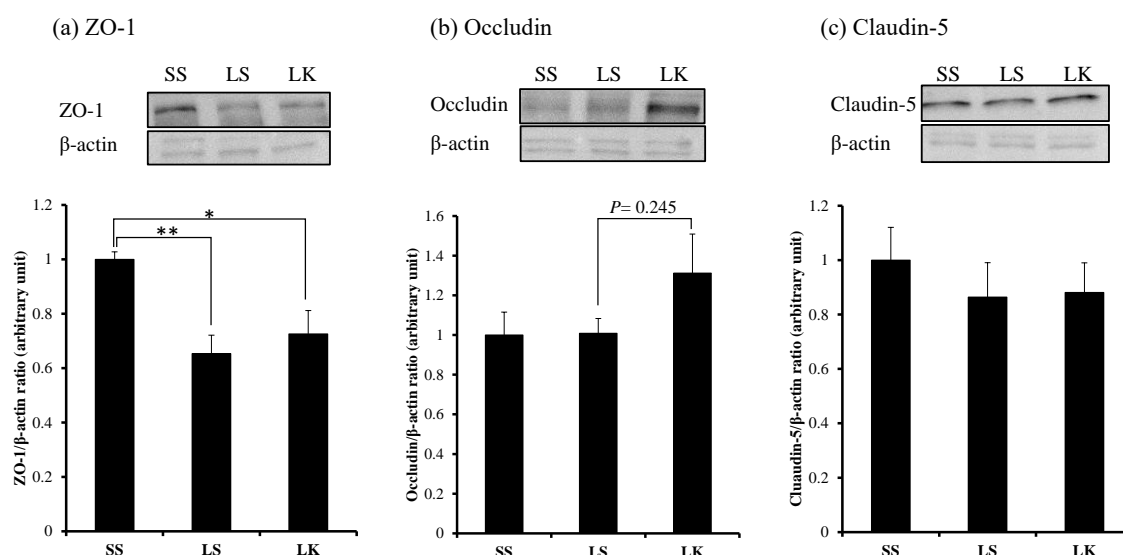


Fig. 6 Effect of Kakkon-to on the expression of TJ protein in the brain. Data represent the means \pm S.E.M. of 5-9 mice. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, Tukey-Kramer test.

第2章 BBB機能低下をもたらす炎症性物質に対する葛根湯の作用

次に、炎症下において TJ 関連タンパク質の *viability* を変化させうる諸因子に対する葛根湯の影響について調べることにした。その因子として活性酸素種 (ROS) ¹⁰⁾、腫瘍壊死因子- α (TNF- α) ¹¹⁾、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) ¹¹⁾、MMPs の制御因子である組織メタロプロテアーゼ阻害物質 (TIMPs) ¹²⁾ が候補として挙げられる。これら物質は TJ 関連タンパク質、アドヘレンスジャンクション関連タンパク質および細胞外マトリックスの消失・分解に関与する。3 回目の LPS 投与から 4 時間後の脳中 ROS レベル、脳内 TNF- α 濃度、total MMP-9 活性、脳内 TIMP-1 濃度を測定した。ROS レベルは SS 群と比較して LS 群でやや増加傾向を示し、葛根湯では LS 群と変わらない値であった (Fig. 7 (a))。また、ROS の長期暴露の指標であるカルボニルタンパク質にも変化がなかったことから (データを示していない)、葛根湯によるバリアー能維持には ROS を介した機序はないと考えられた。

他方、脳内 TNF- α 濃度および total MMP-9 活性は、SS 群と比較して LS 群で有意に高値を示した (Fig. 7 (b), (c))。そのため、LPS 投与による BBB のバリアー能低下には TNF- α および MMP-9 の関与が強く示唆された。total MMP-9 活性は、LS と LK 群で両者に差はなかった。しかし、葛根湯は MMP-9 の阻害物質である TIMP-1 の脳内濃度を増加させた (Fig. 7 (d))。TIMP-1 は pro MMP-9 から active MMP-9 への変換を阻害する。これらことから、葛根湯は脳内 TIMP-1 濃度上昇を介して MMP-9 活性を阻害し、元来 MMP-9 によって分解される基底層タンパク質のコラーゲンIVやラミニンの *viability* を維持して BBB 機能の低下を防いだ可能性が示唆された。

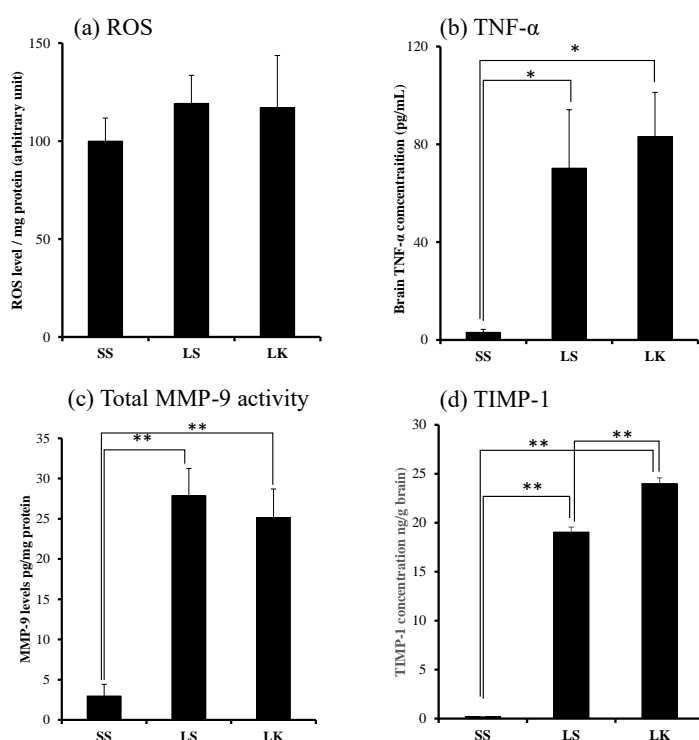


Fig. 7 Effect of Kakkonto administration on brain ROS level, TNF- α concentration, total MMP-9 activity and TIMP-1 concentration at 24 h after LPS-treatment.

Data represent the means \pm S.E.M. of 5-7 mice. * P < 0.05 and ** P < 0.01, Tukey-Kramer test.

第3章 脳中トランスポーターの発現量に対する葛根湯の作用

第1編では、OPと葛根湯の併用により、OC脳移行性が抑制されることを見出し、このことはLPSによるTJ間隙拡張の抑制効果では説明できず、トランスポーター機能に対して影響を及ぼしている可能性が示唆された。OCは、MRP4およびOAT3によって脳から血液方向へ排出される。

Fig. 8は、脳内MRP4およびOAT3発現量をウエスタンブロット法により測定した結果である。脳内MRP4発現量は3群間で有意な差は認められなかった(Fig. 8(a))。脳内OAT3発現量は、SS群とLS群で有意差は認められなかったものの、LS群で減少傾向を示した。LS群とLK群の比較では、LK群で有意に高値を示した(Fig. 8(b))。このことから、葛根湯はOAT3のアップレギュレーションを介してOCの脳移行性を抑制させている可能性が示唆された。

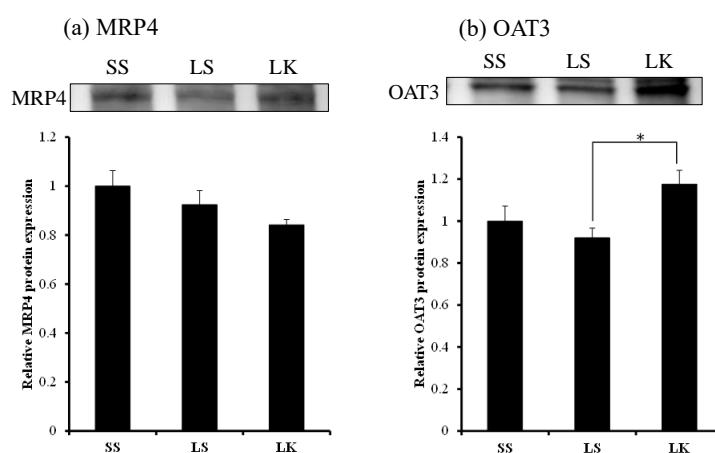


Fig. 8 Effect of Kakkon-to on the expression of MRP4 (a) and OAT3 (b) proteins in the brain. Data represent the means \pm S.E.M. of 6 mice. * $P < 0.05$, Tukey-Kramer test.

結論

葛根湯とOPあるいはOCの併用により、OCの脳移行性が抑制された。また、葛根湯は水溶性モデル物質であるCal、FD-4、EBの脳移行性を抑制したものの、低分子量のFluの脳移行性には影響を与えなかった。種々検討の結果、葛根湯のBBB機能低下抑制効果には2つの作用を有することが示唆された。(1) 葛根湯は、脳内TIMP-1濃度を上昇させることによってMMP-9の活性を阻害しBBBの構造および機能を維持させた。(2) さらに、BBBにおいてOAT3をアップレギュレーションさせた。これにより水溶性アニオン、すなわちOCを脳から血管側へ排出して脳内のOC濃度を低下させていることが明らかとなった。

以上、本研究によって、異常行動の要因である OC の脳移行性亢進が葛根湯併用により抑制できる可能性およびその機序を明らかにした。葛根湯とタミフル®の併用は、異常行動の発症抑制が期待でき、今後、インフルエンザ感染症の薬物治療のオプションとして臨床的検討が期待される。さらに、葛根湯には、中枢性副作用が問題となる薬物の抑制剤としての応用性が期待できる。

引用文献

- 1) Influenza (Seasonal) (Report). WHO. (2016).
- 2) Ermias D. Belay, M.D., Joseph S. Bresee, M.D., Robert C. Holman, M.S., Ali S. Khan, M.D., Abtin Shahriari, M.P.H., and Lawrence B. Schonberger M. D., *N. Engl. J. Med.*, **340**, 1337–1382 (1999).
- 3) 中外製薬、緊急安全性情報 - タミフル服用後の異常行動について - (2007).
- 4) Usami A., Sasaki T., Satoh N., Akiba T., Yokoshima S., Fukuyama T., Yamatsugu K., Kanai M., Shibasaki M., Matsuki N., Ikegaya Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **106**, 659–662 (2008).
- 5) Uchiyama H., Hiromura M., Shiratani T., Kuroki H., *Neurosci. Lett.*, **599**, 7–11 (2015).
- 6) Oshima S., Nemoto E., Kuramochi M., Saitoh Y., Kobayashi D., *J. Pharm. Pharmacol.*, **61**, 1397–1400 (2009).
- 7) 西勝久, *phil漢方*, **No. 28**, 14–15 (2009).
- 8) Ose A., Ito M., Kusuhara H., Yamatsugu K., Kanai M., Shibasaki M., Hosokawa M., Schuetz J. D., Sugiyama Y., *Drug Metab. Dispos.*, **37**, 315–321 (2009).
- 9) Nitta T., Hata M., Gotoh S., Seo Y., Sasaki H., Hashimoto N., Furuse M., Tsukita S., *J. Cell Biol.*, **161**, 653–660 (2003).
- 10) Zhou T., Zhao L., Zhan R., He Q., Tong Y., Tian X., Wang H., Zhang T., Fu Y., Sun Y., Xu F., Guo X., Fan D., Han H., Chui D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **453**, 419–424 (2014).
- 11) Raul Reyes M. S., Miao Guo M. S., Kathryn Swann B. S., Siddharth U. Shetgeri M. S., Shane M. Sprague B. S., David F. Jimenez M. D., Constance M. Barone, M.D. A., Yuchuan Ding, M.D. P. D., *J. Neurosurg.*, **110**, 1218–1226 (2009).
- 12) Wu J., Zhao D., Wu S., Wang D., *Eur. J. Pharmacol.*, **748**, 30–36 (2015).

本論文で使用した引用文献

- 1) Morishima T., Togashi T., Yokota S., Okuno Y., Miyazaki C., Tashiro M., Okabe N., *Clin. Infect. Dis.*, **35**, 512–517 (2002).
- 2) Ermias D. Belay, M.D., Joseph S. Bresee, M.D., Robert C. Holman, M.S., Ali S. Khan, M.D., Abtin Shahriari, M.P.H., and Lawrence B. Schonberger M. D., *N. Engl. J. Med.*, **340**, 1337–1382 (1999).
- 3) 製薬企業 (33社) , 緊急安全性情報-インフルエンザ脳炎・脳症患者に対するジクロフェナクナトリウム製剤の使用について-(2000).
- 4) Yoshino T., Katayama K., Horiba Y., Munakata K., Yamaguchi R., Imoto S., Miyano S., Mima H., Watanabe K., *BMC Med. Inform. Decis. Mak.*, **16**, 118 (2016).
- 5) Kurokawa M., Imakita M., Kumeda C. A., Yukawa T. A., Shiraki K., *J. Tradit. Med.*, **13**, 201–209 (1996).
- 6) Kurokawa M., Tsurita M., Brown J., Fukuda Y., Shiraki K., *Antiviral Res.*, **56**, 183–188 (2002).
- 7) Muraoka K., Yoshida S., Hasegawa K., *J. Tradit. Med.*, 30–37 (2003).
- 8) Wu M. S., Yen H. R., Chang C. W., Peng T. Y., Hsieh C. F., Chen C. J., Lin T. Y., Horng J. T., *J. Ethnopharmacol.*, **134**, 614–623 (2011).
- 9) Mantani N., Imanishi N., Kawamata H., Terasawa K., Ochiai H., *Planta Med.*, **67**, 240–243 (2001).
- 10) Tanabe J., Watanabe M., Kondoh S., Mue S., Ohuchi K., *Br J Pharmacol*, **113**, 1480–1486 (1994).
- 11) Yamaoka Y., Kawakita T., Kaneko M., Nomoto K., *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 936–939 (1996).
- 12) 西勝久, *phil漢方*, No. 28, 14–15 (2009).
- 13) Fukuda M., Kitaichi K., Abe F., Fujimoto Y., Takagi K., Takagi K., Morishima T., Hasegawa T., *J. Pharmacol. Sci.*, **97**, 525–32 (2005).
- 14) Oshima S., Nemoto E., Kuramochi M., Saitoh Y., Kobayashi D., *J. Pharm. Pharmacol.*, **61**, 1397–1400 (2009).
- 15) 中外製薬, 緊急安全性情報-タミフル服用後の異常行動について-(2007).
- 16) Hoffman K. B., Demakas A., Erdman C. B., Dimbil M., Doraiswamy P. M., *Bmj*, **347**, f4656 (2013).
- 17) Usami A., Sasaki T., Satoh N., Akiba T., Yokoshima S., Fukuyama T., Yamatsugu K., Kanai M., Shibasaki M., Matsuki N., Ikegaya Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **106**, 659–662 (2008).
- 18) Uchiyama H., Hiromura M., Shiratani T., Kuroki H., *Neurosci. Lett.*, **599**, 7–11 (2015).
- 19) Ozaki Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 559–562 (1995).
- 20) Nishimura K., Osawa T., Watanabe K., *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, **2011**, 1–

- 7 (2011).
- 21) Jeong S. J., Yoo S. R., Kim O. S., Seo C. S., Shin H. K., *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, **2014**, 1–9 (2014).
 - 22) Shi D., Yang J., Yang D., LeCluyse E. L., Black C., You L., Akhlaghi F., Yan B., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **319**, 1477–1484 (2006).
 - 23) Suzaki Y., Uemura N., Takada M., Ohyama T., Itohda A., Morimoto T., Imai H., Hamasaki H., Inano A., Hosokawa M., Tateishi M., Ohashi K., *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **69**, 21–30 (2013).
 - 24) Kang E. J., Major S., Jorks D., Reiffurth C., Offenhauser N., Friedman A., Dreier J. P., *Neurobiol. Dis.*, **52**, 204–218 (2013).
 - 25) Ose A., Ito M., Kusuhara H., Yamatsugu K., Kanai M., Shibasaki M., Hosokawa M., Schuetz J. D., Sugiyama Y., *Drug Metab. Dispos.*, **37**, 315–321 (2009).
 - 26) Nitta T., Hata M., Gotoh S., Seo Y., Sasaki H., Hashimoto N., Furuse M., Tsukita S., *J. Cell Biol.*, **161**, 653–660 (2003).
 - 27) Belayev L., Busto R., Zhao W., Ginsberg M. D., *Brain Res.*, **739**, 88–96 (1996).
 - 28) Sandoval K. E., Witt K. A., *Neurobiol. Dis.*, **32**, 200–219 (2008).
 - 29) Schreibelt G., Kooij G., Reijerkerk A., van Doorn R., Gringhuis S. I., van der Pol S., Weksler B. B., Romero I. a, Couraud P.-O., Piontek J., Blasig I. E., Dijkstra C. D., Ronken E., de Vries H. E., *FASEB J.*, **21**, 3666–3676 (2007).
 - 30) Liu Z., *Exp. Mol. Pathol.*, **97**, 386–392 (2014).
 - 31) Zhao Y. L., Du J., Kanazawa H., Cen X. B., Takagi K., Kitaichi K., Tatsumi Y., Takagi K., Ohta M., Hasegawa T., *Brain Res.*, **956**, 246–253 (2002).
 - 32) Tsuge M., Yasui K., Ichiyawa T., Saito Y., Nagaoka Y., Yashiro M., Yamashita N., Morishima T., *Microbiol. Immunol.*, **54**, 417–424 (2010).
 - 33) Ramirez S. H., Fan S., Zhang M., Papugani A., Reichenbach N., Dykstra H., Mercer A. J., Tuma R. F., Persidsky Y., *Am. J. Pathol.*, **176**, 881–892 (2010).
 - 34) Aid S., Silva A. C., Candelario-jalil E., Choi S., Rosenberg G. A., Bosetti F., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **30**, 370–380 (2009).
 - 35) Banks W. A., Gray A. M., Erickson M. A., Salameh T. S., Damodarasamy M., Sheibani N., Meabon J. S., Wing E. E., Morofuji Y., Cook D. G., Reed M. J., *J. Neuroinflammation*, 1–15 (2015).
 - 36) Dal-Pizzol F., Rojas H. A., Dos Santos E. M., Vuolo F., Constantino L., Feier G., Pasquali M., Comim C. M., Petronilho F., Gelain D. P., Quevedo J., Moreira J. C. F., Ritter C., *Mol. Neurobiol.*, **48**, 62–70 (2013).
 - 37) Wei H., Wang S., Zhen L., Yang Q., Wu Z., Lei X., Lv J., Xiong L., Xue R., *J. Mol. Neurosci.*, **55**, 872–879 (2015).

- 38) Chen F., Radisky E. S., Das P., Batra J., Hata T., Hori T., Baine A. T., Gardner L., Yue M. Y., Bu G., Zoppo G., Patel T. C., Nguyen J. H., *J. Cereb. Blood Flow & Metab.*, **33**, 1041–1049 (2013).
- 39) Suzuki Y., Nagai N., Umemura K., *Front. Cell. Neurosci.*, **10**, 1–10 (2016).
- 40) Zhou T., Zhao L., Zhan R., He Q., Tong Y., Tian X., Wang H., Zhang T., Fu Y., Sun Y., Xu F., Guo X., Fan D., Han H., Chui D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **453**, 419–424 (2014).
- 41) Raul Reyes M. S., Miao Guo M. S., Kathryn Swann B. S., Siddharth U. Shetgeri M. S., Shane M. Sprague B. S., David F. Jimenez M. D., Constance M. Barone, M.D. A., Yuchuan Ding, M.D. P. D., *J. Neurosurg.*, **110**, 1218–1226 (2009).
- 42) Rosenberg G. A., Estrada E. Y., Mobashery S., *Brain Res.*, **1133**, 186–192 (2007).
- 43) Ishijima Y., Kawamura T., Kimura A., Kohno A., Okada T., Tsuji T., Watanabe Y., *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **24**, 43–54 (2011).
- 44) Mori S., Takanaga H., Ohtsuki S., Deguchi T., Kang Y., Hosoya K., Terasaki T., *Blood*, **3**, 432–440 (2003).
- 45) Akanuma S., Uchida Y., Ohtsuki S., Tachikawa M., Terasaki T., Hosoya K., *Fluids Barriers CNS*, **8**, 24 (2011).
- 46) Duan P., Li S., You G., *Eur. J. Pharmacol.*, **627**, 49–55 (2010).
- 47) Höcherl K., Schmidt C., Bucher M., *Kidney Int.*, **75**, 373–380 (2009).
- 48) 鍋谷大二郎, 藤田次郎, *インフルエンザ*, **17**, 29–34 (2016).
- 49) Seelbach, R. D., Brooks, T. A., Egleton, R. D., Davis, T. P., *J. Neurochem.*, **102**, 1677–1690 (2007).
- 50) 厚生労働省, 医薬品・医療機器等安全性情報, No. 329 (2016).
- 51) Hawkins, B. T., and Davis, T. P., *Pharmacol. Rev.*, **57**, 173–185 (2005).
- 52) Nishioku T., Matsumoto J., Dohgu S., Sumi N., Miyano K., Takata F., Shuto H., Yamauchi A., and Kataoka Y., *J pharmacol Sci.*, **112**, 251–254 (2010).
- 53) Yu HY., Cal YB., Liu Z., *Brain inj.*, **29**, 777–784 (2015).
- 54) Yu H., Wang P., An P., Xue Y., *J Mol Neurosci.*, **46**, 236–247 (2012).