

약물의 간내 이행기전과 알부민의 역할

한용해 · 심창구[†]

서울대학교 약학대학

(1990년 11월 15일 접수)

Albumin-Mediated Hepatic Uptake of Drugs

Yong-Hae Han and Chang-Koo Shim[†]

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received November 15, 1990)

A central dogma of pharmacology is that only unbound drug is capable of translocation across biological membrane. Thus, hepatic uptake is assumed to be solely determined by the unbound concentration of the diffusible moiety at the surface of the liver cell. However, an increasing number of experimental observations with xenobiotics that are normally very extensively bound to plasma proteins (>99%) appear to be inconsistent with these assumptions. This suggested that in addition to progressive spontaneous dissociation within the liver sinusoids and space of Disse, direct interactions of the albumin-drug complex at the plasma membrane may facilitate dissociation of the complex. To explain this phenomena, called albumin-mediated uptake, 4 mechanisms have been suggested. The validity of such hypotheses needs to be examined by the further study. Because albumin-mediated uptake has also been observed to occur in other plasma proteins, protein-mediated uptake rather than albumin-mediated uptake seems to be acceptable.

Keywords—albumin-mediated uptake, albumin receptor, hepatic uptake, protein-mediated uptake

종래의 콤파트먼트 모델에 있어서 콤파트먼트 개념의 추상성을 극복하기 위한 노력으로 생리학적 약물속도론이 소개되었다. 생체의 생리학적, 해부학적, 생화학적 정보로부터 약물의 분포와 배설 등을 예측하려는 생리학적 약물속도론은 Bischoff와 Dedrick¹⁾에 의해 확립된 이래로 현재까지 각종약물의 속도론적 연구에 널리 이용되고 있다. 이 이론은 약물의 세포막 투과와 대사, 배설속도는 단백질 등의 생체고분자와 결합하고 있지 않은 비결합형 약물농도에 의존한다는 것을 그 주요한 가정으로 채택하고 있다.^{2,3)} 실제로 혈중에서는 알부민, α_1 -acid glycoprotein, glycoprotein, lipoprotein 등 많은 단백질이

있어 약물의 대사, 분포, 배설 과정에 관여하고 있으며 이 중에서 특히 산성약물(음이온 약물)에 친화력이 있는 알부민⁴⁻⁶⁾과 주로 염기성 약물(양이온 약물)과 결합하는 α_1 -acid glycoprotein^{7,8)}이 특히 중요하다. 지금까지 약물의 체내대사나 소실과정을 예측할 때 주로 비결합형 약물을 중심으로 이루어졌으며 디아제팜,^{3,9)} 톨부타미드,^{10,11)} 디소피라미드,¹²⁾ 푸레드니솔론,¹³⁾ 푸로푸라놀롤,¹⁴⁾ 퀴니딘,¹⁵⁾ 코티솔,¹⁶⁾ 항응고제¹⁷⁻²⁰⁾ 등의 수많은 연구 보고에서 보듯 앞에서의 가정은 적절한 것으로 인정되어 왔다. 또한 유기음이온과 알부민을 동시에 투여하였을 때 알부민은 혈액이나 관류액에 남아 있고 간이나 조

[†] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

직내로는 이행하지 않는다는 사실²¹⁾도 위 가정의 근거가 되고 있다.

그러나 최근 혈중에서 알부민과 99% 정도로 강하게 결합하는 약물에서 간으로의 이행(uptake)속도가 비결합형 농도에 반도시 의존하지 않는다는 사실이 잇달아 밝혀지고 있어 주목을 끌고 있다. 일반적으로 혈액이나 관류액 중에 알부민 등의 단백질이 많아지면 그만큼 비결합형 약물량이 적어져 간의 장기로의 이행이 감소하지만 실제의 이행량은 이러한 비결합형 약물량으로 예상되는 이론값 보다 훨씬 크다는 사실이 알려지면서 알부민을 매개로 한 약물의 간내 이행이라는 용어로 통용되고 있다.

알부민을 매개로 한 약물의 간내 이행(albumin-mediated hepatic uptake) 현상의 발견

1966년 Baker 등²²⁾은 혈장중알부민과 강하게 결합하는 약물인 bromosulphophthalein(BSP)의 빠른 간내 이행을 비결합형 약물의 느린 막확산만으로 설명할 수 없음을 보고하였다. 이와 같은 신기한 현상을 설명하기 위해 그는 알부민-약물 복합체가 sinusoid나 Disse space내에서 혈장막(plasma membrane)과 직접 상호작용하여 약물의 해리가 촉진되고 그 때문에 혈장중 비결합형 농도는 낮으나 막표면에서의 비결합형 농도는 높아지는 것이 아닐까 생각하였다. 즉, 이렇게 막표면에서 높아진 비결합형 농도 때문에 간으로의 이행속도가 커지는 것으로 생각한 것이다. 그러나 이 주장은 실험적인 증거가 없기 때문에 그 후 더 진전되지 못하였다.

이러한 현상이 주목을 받게 된 것은 1981년 Forker와 Luxon²³⁾가 담즙산인 taurocholic acid(TCA)의 간 이행에 미치는 알부민의 효과를 간 관류법을 써서 조사 보고한 이후였다. 그들은 관류액중의 알부민의 농도를 각각 0.5 및 5g/dl로 한 상태에서 TCA를 관류시켰는데 이때 TCA는 관류액중에서 log-linear하게 소실되는 것을 발견하였다(Fig. 1). 여기에서 알부민의 농도를 0.5g/dl에서 10배 증가시킨 5g/dl의 경우 비결합율이 0.568에서 0.114로 80%나 감소하기 때문에 알부민 농도를 5g/dl로 10배 높이면 TCA의 소실은 80% 정도 감소할 것으로 예상되었다. 그러나 실제 TCA의 소실속도는 두 알부민 농도에서 큰 차이가 없었다. 즉 알부민 농도가

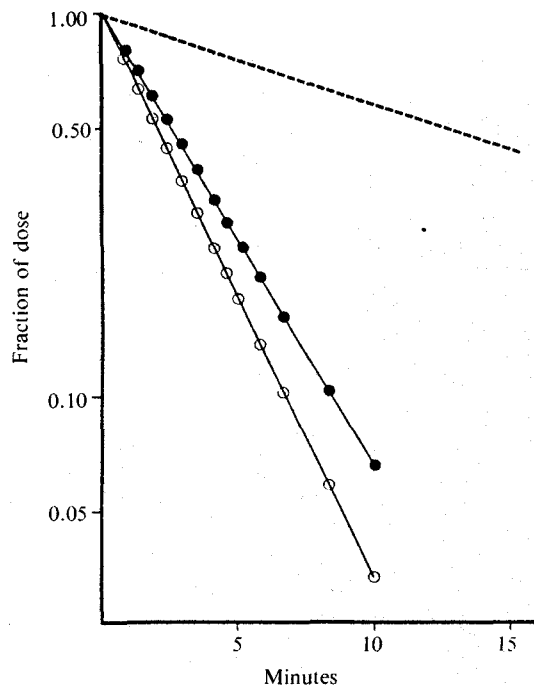


Figure 1—Representative taurocholate disappearance curves obtained when perfusate albumin concentration was 0.5 g/dl (O) and 5.0 g/dl (●). The broken line represents the predicted result for an albumin concentration of 5.0 g/dl based on the assumption that uptake is determined by the perfusate concentration of free bile salt.

5g/dl일 때 관류액중의 비결합형 농도로 부터 예상되는 이론적인 이행속도값보다 실제속도가 훨씬 컸던 것이다. 이 결과를 토대로 Forker 등은 비결합형 약물량만으로 어떤 약물의 간내소실을 설명하는 종래의 해석에 이의를 제기하게 되었다.

한편 Weisiger와 Ockner 등²⁴⁾은 single pass 관류법에 의해 유리지방산인 oleate의 랫트 간내 이행을 조사하였다. 알부민 농도를 일정하게 하고 oleate의 농도를 증가시키면 비결합형 농도는 비선형적으로 급격히 증가한다. 그러나 전체 oleate의 간내 이행속도는 비결합농도 변화에 비례하지 않고 전 oleate 농도에 비례할 뿐이었다(Fig. 2-a).

또한 oleate와 알부민의 농도를 일정한 몰비(1:1)로 증가시키면 비결합 농도는 일정하지만 oleate 이행속도는 포화현상을 보인다(Fig. 2-b). 어느 경우이건 oleate의 이행속도는 비결합형 oleate의 농도 변화와는 관련이 없었다. 이 결과로 부터 리간드의

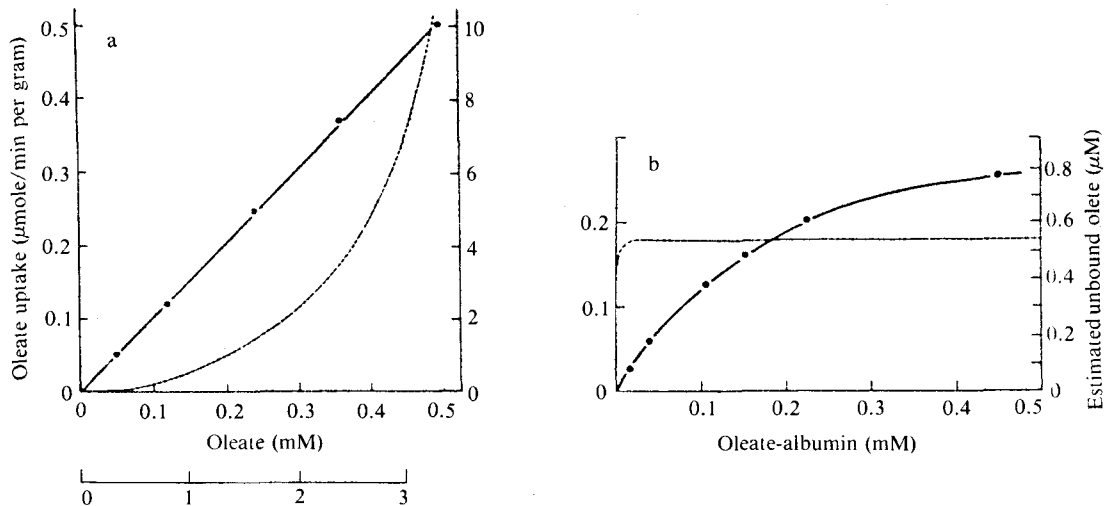


Figure 2—Oleate uptake by representative isolated perfused rat livers. Livers were perfused (single pass) with a sequence of solutions containing the indicated concentrations of [14 C]oleate and bovine serum albumin. Steady-state oleate uptake was calculated by analysis of effluent samples. (a) Effect of varying oleate concentration on (—) uptake and (---) unbound oleate concentration, with albumin fixed at 0.15 mM. (b) Effect of varying the concentration of both oleate and albumin at a 1:1 molar ratio on (—) oleate uptake and (---) unbound oleate concentration.

이행속도는 비결합형 농도보다는 알부민-리간드 복합체의 양에 의해 결정되는 것이 아닌가 생각되었다. 또한 Weisiger 등은 일정 몰비의 oleate와 알부민 양이 증가하면서 나타내는 포화현상으로부터 알부민-리간드 복합체의 이행에 있어서 이를 매개하는 특정 수용체가 간세포 표면에 존재할 수 있음을 제안하였다.

Barnhart²⁵⁾는 담낭조영제인 iopanoic acid(IOP)를 써서 알부민(ALB)의 매개효과를 장기레벨이 아니라 세포레벨에서 해석하였다. 즉 IOP/ALB 값을 3.4와 5.0으로 알부민의 양을 변화시키면서 유리간세포에 대한 이행속도를 측정된 결과 역시 비결합형 약물농도로부터 예상되는 속도보다 큰 이행속도를 확인하였다. 그는 이 실험계에서 비결합형 약물의 이행은 확산에 의해 일어남을 확인한 후 전체 약물의 uptake 속도에서 확산에 의한 이행을 뺌으로서 알부민을 매개하여 이행되는 속도를 계산하였다. 이는 알부민을 매개한 간세포의 이행속도의 수치화를 시도하였다는 의의를 지닌다. 이때 Fig. 3에서 보듯 알부민의 양이 달라져도 전체 uptake 양은 별 차이가 없었다. 이는 알부민의 양이 상대적으로 많은 IOP/ALB=3.4의 경우가 IOP/ALB=5.0인 경우보다 비결합형 약물량이 적어 확산에 의한 이행은 적었

으나 대신 ALB-IOP 복합체에 의한 알부민을 매개한 간세포의 이행이 상대적으로 많아 전체 IOP의 걸보기 이행속도에는 차이가 나타나지 않은 것으로 생각된다.

한편 Hanano 등^{26,27)}은 간에 대해 multiple indicator dilution(MID)법을 이용하여 와르파린의 간세포에서의 이행과정을 sinusoid에서 간세포로의 유입, 간세포에서 sinusoid로의 유출, 간세포에서의 sequestration 과정으로 세분하여 (Scheme 1) 초단위로 분석하였다. 이러한 MID법은 단순히 간에서의 추출만을 고려하던 종래의 모델해석에서 더 나아가 약물의 이행과정을 3가지로 나누어 해석함으로써 특정 병태나 약물상호작용 또는 기타 변동요인에 의해 변하게 되는 간에서의 유입, 유출, sequestration 과정 모두를 분리해서 구할 수 있는 뛰어난 방법이다. 그 결과 와르파린 유입속도는 알부민과 공존시 와르파린의 비결합분율로부터 예측되는 값보다 10배 정도 컸다. 이 실험결과는 알부민을 매개한 간세포의 이행을 일반 약물에서도 확인한 최초의 본보기라는 의의를 지니고 있다.

Forker 등과 Weisiger 등의 실험을 시초로 하여 알부민을 매개한 간세포의 이행이 인정된 이래로 이 분야를 규명하기 위한 연구는 주로 담즙산, 유리지

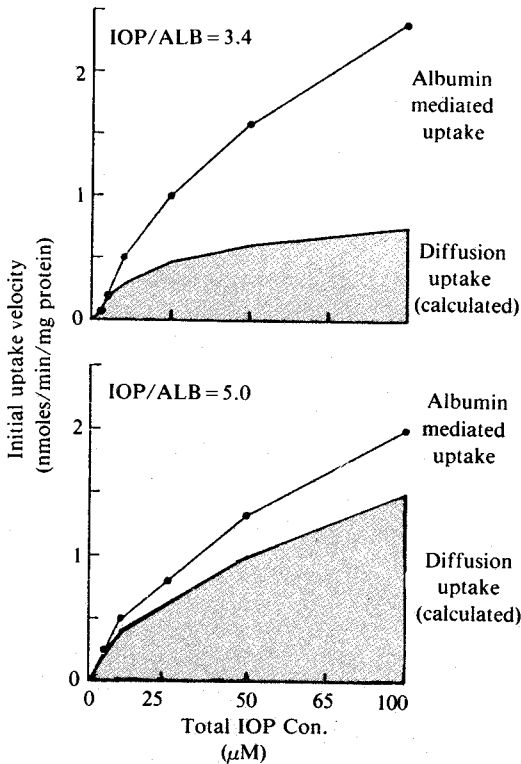
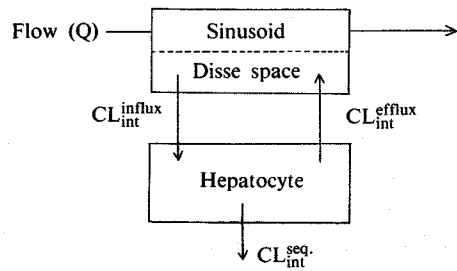


Figure 3—Initial uptake velocity of iopanoic acid (IOP) in presence of albumin. Uptake was comprised of 2 components: diffusion (U_d) and albumin-mediated (U_{am}). Calculated U_d (shaded area) is based on rate of uptake in absence of albumin and unbound concentration of IOP in incubation medium. $U_{total} = U_d + U_{am}$.

방산, 유기음이온을 중심으로 활발히 이루어져 왔다. 지금까지의 보고를 종합해보면 어떠한 약물들에서 이러한 현상들이 특징적으로 나타나는가에 대한 공통된 인식은 다음과 같다. 일반적으로 알부민 등의 단백질에 대한 결합률이 낮은 약물의 간세포로의 이행은 종래의 이론처럼 혈액이나 관류액중에 존재하는 비결합형 약물의 양에 따라 결정되지만 혈장단백과의 결합률이 99% 이상인 약물의 경우에는 알부민-약물 결합체를 매개로 한 간내 이행기구에 따라 결정되는 바가 크다고 알려져 있다.²⁸⁾ 앞에서 열거한 TCA, oleate, IOP 외에 현재까지 BSP,^{29,30)} 로즈벵갈,³¹⁻³³⁾ 빌리루빈²⁹⁾, 와르파린,^{26,27)} 푸로푸라놀롤,³⁵⁾ 티로이드홀몬,^{36,37)} 스테로이드홀몬,³⁸⁾ 팔미틴산³⁹⁾과 같은 많은 약물들에서 알부민을 매개로 하는 간내 이행 현상이 보고되어 있다.

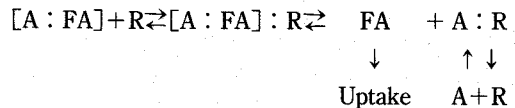


Scheme 1—The model of hepatic elimination in multiple indicator dilution method.

알부민 매개 간내 이행의 기구 : 4가지 가설

알부민 수용체(albumin receptor)설

당초 Weisiger²⁴⁾는 간세포에 대한 oleate의 결합을 연구해 본 결과 간세포 표면에는 적어도 친화력이 큰 결합부위와 친화력은 낮으나 결합량은 많은 결합부위 등 적어도 2가지의 결합부위가 있음을 알았다. 이를 토대로 그는 간세포 표면에 알부민에 특이적으로 결합하는 수용체의 존재를 추측하고 알부민-oleate 복합체가 간내로 이행되는 것을 다음과 같이 설명하였다.



A ; 비결합형 알부민, FA ; 비결합형 oleate, R ; 알부민 수용체, [A : FA] ; 알부민-oleate복합체, A : R ; 비결합형 알부민과 결합한 수용체, [A : FA] : R ; 결합형 알부민과 결합한 수용체

즉, 알부민-리간드 복합체는 간세포 표면에 있는 알부민 수용체와 결합하여 알부민의 구조가 변하게 되고 이로인해 리간드가 알부민으로부터 쉽게 해리하여 간세포내로 이행된다고 제창하였다.

그 후 Weisiger가 제안한 수용체는 많은 연구자들의 흥미를 끌게 되었고 따라서 수용체의 존재를 실증하려는 시도가 활발히 행해졌다. Stremmel⁴⁰⁾ 등은 ¹²⁵I-rat 알부민을 써서 간세포 혈장막과의 결합 정도를 측정하였다. 즉 간세포 혈장막과 알부민을 30분간 incubation한 후 원심분리하여 간세포를 침전시킨 후 간세포에 결합한 알부민 양을 측정하였더니 처음 알부민 양의 2-3%만이 간세포에 결합해

Table I. Binding of ¹²⁵I-labeled Albumin to Sinusoidal-enriched Rat Liver Plasma Membranes and Erythrocyte Ghosts

Incubation mixture	Room	Ultraviolet
	illumination	light
I. Native liver plasma membrane		
Native ¹²⁵ I-labeled albumin	2.3(0.09)	2.0(0.10)
+ Excess unlabeled albumin	2.5(0.12)	2.7(0.15)
Defatted ¹²⁵ I-labeled albumin	3.1(0.08)	2.5(0.11)
+ Excess unlabeled defatted albumin	3.1(0.11)	3.1(0.12)
II. Heat-denatured liver plasma membrane		
Native ¹²⁵ I-labeled albumin	2.6(0.09)	—
III. Erythrocyte ghosts		
Native ¹²⁵ I-labeled albumin	2.1(0.13)	—

Values are percent of incubated label recovered in the initial and (in parenthesis) twice-washed membrane pellets. Each value is the mean of at least two replicates. Unlabeled native or defatted albumin were present at 8000-fold excess (40 nmol).

있는 것을 알았다. 또한 이 결합 역시 약한 것이어서 중탄산 완충액으로 2회 세척하면 처음 양의 0.1% 정도만이 간세포에 결합되었다. 그리고 특이적인 수용체라면 혈장막을 열변성 시켰을 때 알부민과의 결합성이 크게 감소하여야 하나 열변성전과 비교하였을 때 결합성에 차이가 없었다(Table I). 또 ¹²⁵I-rat 알부민과 혈장막과의 결합성은 과잉의 비표지 알부민에 의해서도 저해를 받지 않았고 적혈구 ghost와의 결합정도와의 차이가 나지 않았다. 더우기 막단백을 가용화 시킨 뒤 affinity 크로마토그래피를 행하였으나 알부민과 친화력을 보이는 막단백을 발견할 수 없었으므로 알부민 수용체설에 처음으로 이의를 제기하였다.

또 Mizuma 등⁴¹⁾은 알부민과 유리간세포와의 결합성을 알부민과 분자량이 비슷한 텍스트란과 유리간세포의 결합성과 비교하였다. 즉 동위원소로 표지한 소혈청알부민의 농도를 1.5M-450M이라는 광범위한 범위에 걸쳐 변화시켜 가면서 incubation한 것을 원심분리하여 간세포를 침전시킨 후 상청중에 남아있는 방사능은 원심분리전과 변함이 없었다. 이것 역시 표지 텍스트란과 같은 정도여서 텍스트란의 결합성과 다를 바 없었다. 따라서 그는 알부민과 간세포와의 특이적인 결합이 인정되지 않음을

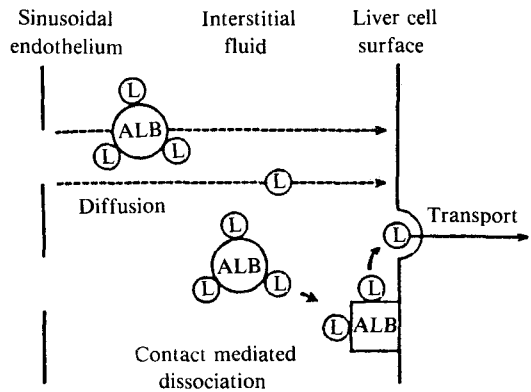


Figure 4—(Top) The net diffusional flux of taurocholate across an unstirred layer of interstitial fluid could be accelerated by protein binding if the diffusion coefficient of monomers (L) were less than three times the diffusion coefficient of albumin (ALB) with its three binding sites occupied. (Bottom) Contact of an albumin-ligand complex with the cell surface could produce a conformational change in the protein favoring local dissociation of the complex and subsequent presentation of free ligand to the transport site.

보고하였다(Fig. 4).

이 밖에 Stollman⁴²⁾은 세포질내의 음이온 약물 결합단백인 리간딘과 빌리루빈 결합체의 이행속도가 알부민과 빌리루빈 결합체의 이행속도와 같은 정도로 보아 알부민에 특이적으로 결합하는 수용체를 부정하였다. Inoue 등^{43,44)}은 선천적으로 혈중에 알부민이 없어서 간세포에 알부민 수용체가 있을리 없는 Nagase 무알부민 쥐(NAR)에서도 발견함으로써 현재까지는 간세포표면상에 알부민 수용체가 있다는 주장은 인정되지 않고 있다.

간세포 표면과 알부민과의 상호 작용설

Forker²³⁾은 알부민과 간세포 표면이 상호작용을 하여 알부민 매개 이행이 일어난다고 설명하였다. 즉 이 설에 의하면 리간딘과 결합한 알부민과의 친화성이 저하되고 그 결과 알부민으로부터 리간딘 유리가 촉진되어 간내로의 이행이 진행된다는 것이다(Fig. 5). Forker는 간세포마다 그 크기나 효소 활성의 정도가 다르다는 점에 입각하여 간에서의 distributed model을 확립하고⁴⁵⁾ 이러한 속도론적 모델에 기초하여 유리지방산,²⁸⁾ 로즈벡갈^{31,32)} 와르파린²⁷⁾의 간 이행과정에서 알부민과 세포표면과의 상호작용을 해석한 결과 그 결합에 대한 해리정수가

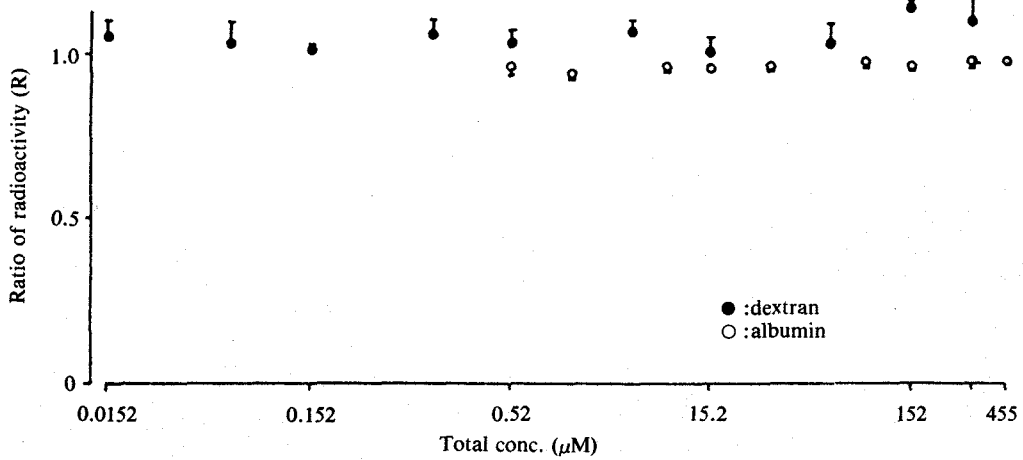


Figure 5—Comparison of the binding behavior of albumin and dextran to isolated rat hepatocytes binding was measured at 37°C by the centrifugation method. R of the radioactivity in the supernatant fluid after centrifugation to that in the mixture of hepatocytes and albumin or dextran containing ¹²⁵I-BSA or ¹⁴C-dextran, respectively, was plotted against total BSA concentration. Hepatocyte concentration:

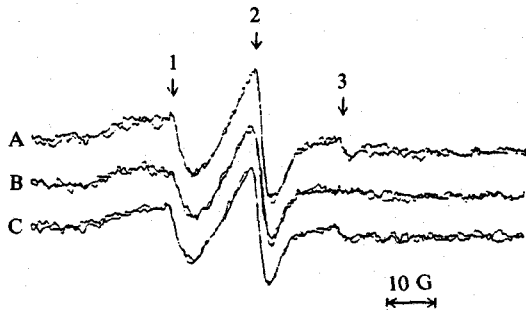


Figure 6—Electron spin resonance spectra of spin-labeled bovine serum albumin in hepatocyte suspension. Arrows 1 and 3 indicate peaks for a freely rotating spin. Each spectrum run twice for same sample is shown. Magnetic field increases from left to right. A: without hepatocytes. B: with hepatocytes. C: in supernatant after centrifugation of hepatocyte suspension.

50-200M임을 계산해내었다. 이 값은 Weisiger²⁴⁾ 등이 in vitro 실험에서 실제로 측정된 결합 측정값 25M과 같은 정도로서 알부민과 간세포 표면간의 약한 상호작용이 있음을 시사하고 있다. 일반적으로 단백질의 구조가 바뀌는 것은 리간드와 단백질의 결합성을 변화시키는 중요한 요인이 된다. 만약 간세포 존재에서 알부민의 구조가 변화되는 것을 실험적으로 확인할 수 있다면 간세포와 알부민간의 상호작용에 의해 알부민에 결합한 리간드의 해리가 촉진

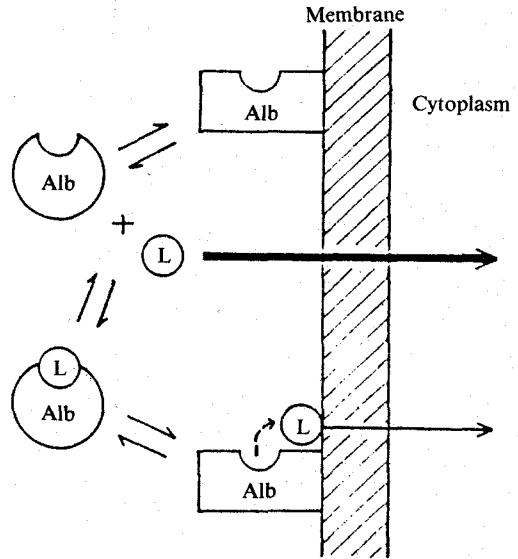


Figure 7—Schematic representation of albumin-mediated hepatic transport through conformational change in albumin molecule. Albumin molecule (Alb) can take two conformational forms; one is normal conformational form and the other is a new form imposed by a conformational change on contact with the membrane. Ligand (L) can be transported in two ways. One way is unbound form (→). The other way is bound form (⇌).

된다는 상기 가설을 어느 정도 입증하는 것이 될 것이다.

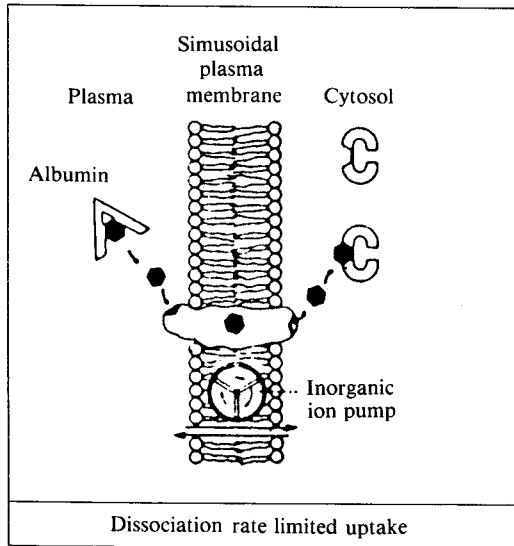


Figure 8—Schematic representation of supposed mechanisms for organic anion transport at sinusoidal level. Net transport across the membrane is mediated by an undefined translocator (carrier of ion-selective channel protein) transporting the unbound substrate. Spontaneous dissociation by progressive removal of the unbound fraction may occur, in which dissociation from albumin may constitute the rate limiting step. Within the cell the substrate is associated with cytosolic-binding proteins such as ligandin (glutathione transferase B) and Z protein (fatty acid-binding protein).

이점에 착안하여 Horie 등⁴⁶⁾은 electron spin resonance (ESR) 스펙트럼을 이용해서 세포막과 알부민간의 상호작용에 따르는 알부민의 구조변화를 측정하였다. Fig. 6에서 ↑1과 ↑3은 알부민이 자위 회전함으로써 생기는 signal을 표시하는 데 알부민과 간세포가 함께 존재할 때 ↑1은 감소, ↑3은 소멸되고 있다. 그러나 간세포 현탁액을 원심분리하여 간세포를 침전시킨 후 상청의 알부민액에 대해 ESR을 찍으면 원래의 알부민 스펙트럼을 다시 나타내었다. 간세포와 공존할 때 알부민의 스펙트럼 변화는 알부민과 간세포가 상호작용을 함으로 인해 알부민의 구조가 변화하였음을 보여주는 것이다. 또 그는 이 알부민과 간세포막 상호작용의 성질을 보다 명확히 규명하기 위해 rat 적혈구막, 적혈구 ghost, 리포솜 등의 막에 대해서도 같은 방법으로 ESR을 측정하여 비교하였다. 그 결과 이러한 모든 막에서 앞서의 간세포막실험과 같은 결과를 보여줌으로써

알부민의 구조변화가 반드시 간 세포막과의 특이한 상호작용에서만 생기는 것이 아님을 추가로 알게되었다. 이상의 실험을 통해서 그는 알부민이 간내 이행에 관여할 때 알부민의 conformation이 2가지가 있을 수 있음을 설정하고 Fig. 7과 같은 모식적 구조를 제안하였다.

알부민-리간드 간의 해리속도가 uptake를 율속한다(dissociation rate limited uptake)는 설

지금까지의 알부민 대개설에 대한 해석에서는 sinusoid와 Disse space 내에서 알부민과 리간드 사이의 결합에 순간평형이 성립하는 것으로 가정하였다. 즉 1분자의 비결합형 약물(ligand)가 간세포에 이행되면 줄어든 비결합형 약물을 보충하기 위해 결합된 리간드 1분자가 알부민으로 부터 순간적으로 해리되어 나오는 것으로 생각하였다. 그러나 알부민 수용체의 실제 여부에 대한 의문이 제기되자, 알부민 수용체설의 제창자인 Weisiger 등⁴⁷⁻⁴⁹⁾은 혈중에 알부민이 없는 상어유에 대한 실험 데이터가 정상 쥐에서의 결과와 같다는 사실을 바탕으로 알부민으로 부터 리간드의 해리과정이 이행의 율속단계라는 설을 수용체설의 대안으로 제시하였다(Fig. 8). 즉 알부민과 결합한 약물의 간내 이행에서 알부민으로 부터의 약물의 해리속도보다 비결합형 약물의 이행이 더 빠를 경우 이행속도는 해리과정에 의해 결정되고 또한 그 크기는 결합형 약물농도에 비례하게 된다. 이러한 생각은 알부민에서의 해리속도와 해리된 비결합형약물의 해리속도가 같다는 종래의 '순간평형설'에 배치되는 것으로 실제 두 속도의 크기를 비교함으로써 타당성여부를 검토하여야 한다. 지금까지 해리속도와 이행속도를 측정된 데이터는 많지 않지만 빌리루빈-알부민 복합체의 경우 해리과정의 반감기는 22-78초이고 사슬이 긴 지방산의 경우에는 14-230초로 비교적 느리다.⁴⁹⁾ 그러나 쥐의 간에서 oleate와 빌리루빈의 이행속도에 필요한 시간은 5초 미만^{24, 28)}으로 측정되었다. 즉 해리속도가 이행속도보다 훨씬 느렸다. 따라서 결합형약물의 이행에서의 해리과정이 율속단계가 될 수 있음이 인정되고 있다.

또한 그의 시뮬레이션에 의하면 약물의 간내소실을 혈류속도, 알부민에서의 해리속도, 간세포의 이행속도, 비결합형에 대한 고유 클리어런스 등의 조합에 의해 좌우되고 있다. 특히 sinusoid 내에서

알부민 농도가 이행 속도정수와 결합 속도정수의 특정 ratio 이상으로 존재하여야만 결합평형이 존재할 뿐이고 이보다 낮은 알부민 농도에서는 실제로 평형에 도달해 있지 않으므로 결합형 약물의 소실은 해리속도 율속임이 밝혀졌다. 따라서 알부민-리간드 복합체 농도를 높였을 때 나타나는 포화현상이나 알부민 양을 높였을 때 보이는 경쟁적 저해현상은 알부민량 증가에 의해 비로소 평행에 도달함으로써 비롯되는 것이다. 이에 따라 율속단계는 해리단계가 아니라 혈류, 이행단계나 비결합형에 대한 고유 클리어런스단계로 옮겨가게 되는 것이다. 즉 알부민이 적을 때에는 결합형에서 해리된 비결합형 약물이 이행되는 속도보다 알부민과 재결합하는 것이 늦기 때문에 일단 해리가 일어나면 대부분 이행되는 해리단계 율속을 나타낸다. 반면에 알부민량이 많아지면 해리된 리간드가 주위의 알부민에 재결합하는 것이 쉬워져 해리속도는 재결합속도와 대등해지고 해리과정과 재결합 과정사이에 평형상태가 성립되어 다른 과정이 율속단계가 된다. 결합평형을 일으키는 알부민의 양은 약물마다 결합특성과 이행속도가 다르므로 각 실험계마다 일정치 않은 값을 갖게 된다. 이러한 해리속도 율속단계설은 나름대로의 근거를 지니고 있지만 모든 실험 결과에 적용할 수 있을까 여부에 대한 결정적인 결론은 아직 내려지지 않고 있다.

알부민이 Disse space내에서의 확산을 촉진한다는 설

sinusoid와 간세포 사이의 간극인 Disse space는 sinusoid에 비해 그 흐름이 적으므로 장관강에서와 같이 비교반 수상(unstirred water layer, UWL)이 존재할 가능성이 있다. 최근 리간드의 이행에서도 이러한 UWL이 존재할 수 있다는 것으로 알부민 매개 이행을 설명하는 논의가 활발하게 이루어지고 있다. 이미 Forker²³⁾는 막투과 과정이 매우 빠르고 UWL에서의 확산이 이행과정의 율속인 리간드의 경우, 리간드와 결합해 있는 알부민의 확산저항이 작아서 리간드의 이행을 촉진하는 것이라고 주장하였다. Barnhart²⁵⁾ 역시 iopanoic acid의 이행을 알부민이 촉진함을 확인하고 이에 대한 설명으로서 이 현상은 알부민이 UWL에서 iopanoic acid의 확산을 증가시킴에 의해 일어난 것으로 추론하였다.

그러나 그후 Forker⁵⁰⁾는 UWL 중에서의 리간드의

확산계수, 알부민의 확산계수, 리간드와 알부민간의 결합 해리속도를 고려하여 콤파트먼트 해석을 해 본 결과 Disse space에서의 확산정도의 크기가 리간드의 전체 이행에 미치는 영향은 매우 적은 것으로 나타났다. 즉 확산속도를 크게 변화시켜도 이행속도의 변화량은 미미하였으므로 확산정도의 차이로서는 알부민의 이행 촉진을 설명할 수 없다고 하였다.⁵¹⁾ 또한 이들은 UWL의 영향을 배제하기 위하여 단일층의 간세포 (hepatocyte monolayer)를 사용해 팔미틴산의 이행실험을 하였다.³⁹⁾ 그 결과 실험 medium을 격렬히 교반하여 간세포 표면 근방의 비교반층의 영향을 최소로 한 상태에서도 팔미틴산의 이행에 대한 알부민의 촉진효과를 볼 수 있었으므로 알부민이 확산에 미치는 영향을 무시해도 좋을 듯 시사하고 있다. 또 medium의 양을 충분히 하여 비교반수상의 최대 두께를 구해보아도 6.5 μ m 밖에 되지않아 UWL이 있다고 하여도 그 크기는 매우 작은 값을 알 수 있었다. 따라서 알부민이 팔미틴산의 이행을 촉진시키는 것은 알부민과 리간드간의 결합에 의해 리간드가 UWL을 빨리 확산하게 된 때문이라고는 설명할 수 없다고 주장하였다.

이와는 달리 Bass 등⁵²⁾은 UWL을 하나의 콤파트먼트로 규정한 Forker의 해석 방법에 이의를 제기하고 UWL중에서의 리간드의 농도를 고정시키지 않고 거리의 함수로 다룬 non-compartment approach를 시도하였다. 그 결과 지방산, BSP의 간을 측정 한 Weisiger^{24,29)}의 데이터를 잘 설명할 수 있음을 밝히고 있다. 이와 같이 확산과정에서의 알부민의 영향으로 알부민 매개 이행을 해석하려는 시도들은 아직 한정된 데이터의 해석에 그치고 있고 또한 모델의 설정에 따라 서로 배치되는 결과가 나오고 있어 더욱 많은 데이터들을 필요로 하고 있다.

알부민이외의 단백질의 매개효과: 꼭 알부민 이어야만 하는가?

지금까지 살펴본 간 이행에 대한 알부민효과가 알부민만이 지니는 특이적인 역할의 결과인가에 대해 의문이 제기될 수 있다. 이러한 측면에서 알부민의 역할을 명확히 하는 목적으로 선천적으로 체내에 알부민이 없지만 전체 혈장단백량에는 정상 랫트와 차이가 없는 Nagase 무알부민 쥐(NAR)을 이용하면 편리하다.

Table II—Change in the initial velocity (V_0) of RB uptake into the isolated liver cells with varied protein concentrations compared with the velocity predicted based on the unbound fraction of RB

Protein Concentration (P)	Unbound Fraction (fu)	$V_{0(obs)}^a$	$V_{0(cal)}^b$	$\frac{V_{0(obs)}}{V_{0(cal)}}$	$CL_{int}^{uptake}^c$
μM		pmol/min/mg of protein	pmol/min/mg of protein		ul/min/mg of protein
No protein	1.0	131 ± 22 (11)	128.0	1.02	11.4 ± 1.9
HSA					
0.5	0.663	120 ± 30(4)	102.0	1.18	15.7 ± 3.9
1.5	0.320	100 ± 22(5)	61.9	1.62	27.2 ± 6.0
5.0	0.095	73 ± 21(5)	22.4	3.24	66.5 ± 19.1
21.0	0.022	54 ± 10(5)	5.6	9.63	213.0 ± 39
γ -Globulin					
6.2	0.815	121 ± 20(5)	115.0	1.05	12.9 ± 2.1
18.6	0.570	117 ± 20(5)	92.5	1.26	17.8 ± 3.0
62.0	0.257	109 ± 20(5)	52.3	2.08	36.9 ± 6.8
186.0	0.096	86 ± 16(7)	22.5	3.82	78.1 ± 14.5

^aObserved V_0 was determined at a RB concentration (C_1) of 11.5 μM in the medium. Mean \pm SE. Numbers in parentheses represent the number of experiments.

^bCalculated V_0 was obtained by the following equation based on the assumption that the uptake of RB is driven exclusively by the unbound RB: $V_{cal} = [(V_{max} \cdot fu \cdot C_1) / (K_m + fu \cdot C_1)] + D_{app} \cdot fu \cdot C_1$, where C_1 is 11.5 μM and the parameters for the uptake of unbound RB were determined separately (see text for details; $K_m = 10.1$ uM, $V_{max} = 216$ pmol/min/mg of protein, and $D_{app} = 1.15$ u/min/mg of protein).

^cApparent intrinsic clearance of the unbound RB was calculated by the equation: $CL_{int}^{uptake} = V_{0(obs)} / C_1 / fu$.

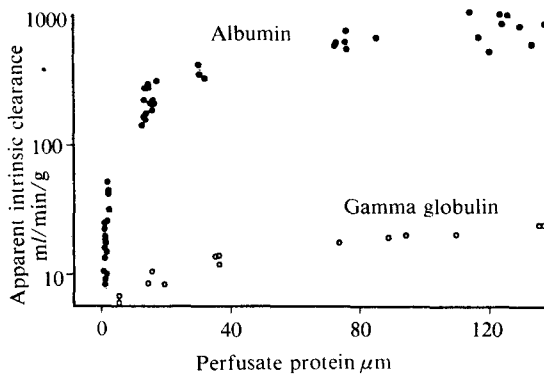


Figure 9—Effect of albumin and gamma globulin on hepatic transport of rose bengal. Apparent intrinsic clearance = $K_a = -(F/\alpha) \ln(1-E)$.

Inoue 등⁴³)은 정상 랫트와 NAR 2군에서의 BSP의 간내 이행 및 담즙배설에 서로 차이가 없는 것으로 보아 BSP가 간내로 이행되는 과정에서 이행을 매개하는 단백질로서 알부민과의 결합이 필수적인 것은 아니라고 주장하였다. 또한 정상 랫트에서 알부민이 수행하는 단백질로서의 역할을 NAR에서는

리간딘(ligandin)과 글로부린이 대신하고 있다고 보고하였다. 한편 빌리루빈-리간딘 복합체를 투여해도 빌리루빈-알부민 복합체를 투여한 때와 비슷한 소실거동을 보인 다른 실험결과로부터도 앞서와 같은 결론을 내리고 있다.⁴⁴⁾ Hanano 등²⁷⁾ 역시 NAR을 이용한 와르파린의 간관류실험에서 알부민 수용체를 갖고 있을리 없는 NAR에 대한 알부민효과가 정상 랫트와 같은 정도로 나타난 것으로부터 이들 현상이 간세포 표면의 알부민 수용체와 같은 특이적인 수용체가 있음에서 기인하는 결과가 아님을 증명하였다. 이와 같이 알부민이외의 혈청단백이 유기음이온의 간수송에 있어서 알부민의 역할을 대신하고 있다는 사실은 NAR에서 로즈벵갈의 이행이 γ -글로부린에 의해 촉진된 결과²⁶⁾로부터도 더욱 명확해진다. 이 실험은 유리 간세포 실험법으로 이행속도를 측정한 것인데 유리간세포내로 로즈벵갈이 이행되는 속도가 γ -글로부린에 의해 촉진되었고 이행속도 V_0 에 미치는 사람혈청 알부민(HSA)와 γ -글로부린의 효과를 비교하면 Table II에 나타난 것처럼

HSA가 γ -글로부린보다 훨씬 크게 나타난다. 같은 혈청단백에서 이러한 차이를 보이는 것은 γ -글로부린보다 알부민이 로즈벵갈과 잘 결합하기 때문으로 설명되고 있다. 이러한 실험결과들은 Forker의 실험³³⁾과 일치하는 결과를 보이고 있다(Fig. 9).

이밖에 락토글로부린에 의해 oleate와 BSP의 이행이 촉진되는 실험결과⁵³⁾가 있고 푸로푸라놀롤이 α_1 -acid glycoprotein에 의해 이행이 촉진된 결과³⁵⁾도 주목을 끌고 있다. 따라서 소위 '알부민 효과'로 불리는 간내 이행에 있어서의 단백매개효과는 알부민만이 지니는 고유현상이 아니라 약물과의 결합성이 있는 혈청단백 모두에서도 나타나는 것으로 받아들여지고 있으며 그 단백매개효과의 정도는 각 단백질의 결합성에 따라 달라지는 것으로 생각된다.

결 론

혈중에서 알부민 등의 단백질과 강력하게 결합하는 약물들에서 발견된 알부민 매개 이행현상에 대해 현재 활발한 논의가 진행되고 있다. 이러한 알부민 매개효과는 오직 비결합형 약물만이 대사나 소실을 받는다는 기존의 통념을 재고하게 하는 계기가 되었다. 이 현상을 설명하기 위해 알부민 수용체설, 간세포표면과 알부민 상호작용설, 해리과정 울속단계설, 알부민에 의한 확산촉진설 등의 여러 기구가 제안되고 있다. 그러나 상기 가설들이 각각의 정당성을 확보하기 위해서는 정량적이고 실증적인 많은 데이터를 필요로 하고 있다. 어떤 측면에서는 위의 어느 한 가지 기구만으로 설명되는 것이 아니라 각 기구가 복잡하게 관련되었을 가능성도 지금으로선 배제할 수 없는 것이다. 또한 무알부민 쥐에서도 이 현상이 발견된 점이나 당초 알부민에서만 일어나는 것으로 여겨졌던 이 현상이 다른 혈청단백에서도 나타난 점으로부터 알부민 특이성은 인정되지 않고 있다. 따라서 지금까지 언급된 알부민 매개 이행 대신 단백질 매개 이행이라는 용어로 수정되어 통용되고 있는 실정이다. 이 현상에 대한 후속의 연구들은 현재까지 그 기구가 명확하지 않은 혈액-뇌 관문(BBB)이나 심장 등 다른 장기에서의 약물 이행이나 대사에도 새로운 정보들을 많이 제공할 것으로 보인다.

감사의 말씀

이 종설에는 한국학술진흥재단(1990)의 연구비 지원이 있었다. 이에 감사드린다.

문 헌

- 1) K.B. Bischoff and R.L. Dedrick: Thiopental pharmacokinetics. *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1346 (1968).
- 2) G.R. Wilkinson and D.G. Shand: A physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **18**, 377 (1975).
- 3) M. Rowland, M. Leitch, G. Fleming and B. Smith: Protein binding and hepatic clearance: discrimination between models of hepatic clearance with diazepam, a drug of high intrinsic clearance, in the isolated perfused rat liver preparation. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **12**, 129 (1984).
- 4) J.N. Lidia: Plasma protein binding of drugs on pregnancy and in neonate. *Clin. Pharmacokin.*, **18**(1), 20 (1990).
- 5) T.F. Blaschke: Protein Binding and kinetics of drugs in liver disease. *Clin. Pharmacokin.*, **2**, 32 (1977).
- 6) M. Rowland: Protein binding and drug clearance. *Clin. Pharmacokin.*, **9**, 10 (1984).
- 7) K.M. Piasfsky: Disease-induced changes in plasma binding of basic drug. *Clin. Pharmacokin.*, **5**, 246 (1980).
- 8) P. Van der Sluijs and D.K.F. Meijer: Binding of drugs with a quaternary ammonium group to α_1 -acid glycoprotein and asialo α_1 -acid glycoprotein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **234**, 703 (1985).
- 9) U. Klotz, K.H. Antonin and P.R. Bieck: Pharmacokinetics and plasma binding of diazepam in man, dog, rabbit, guinea pig, and rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **199**, 67 (1976).
- 10) W.L. Schary and M. Rowland: Protein binding and hepatic clearance: studies with tolbutamide, a drug of low intrinsic clearance, in the

- isolated perfused rat liver preparation. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **11**, 225 (1983).
- 11) R.L. Williams, T.F. Blaschke, P.J. Meffin, K.L. Melman and M. Rowland: Influence of acute hepatitis on disposition and plasma binding of tolbutamide. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **21**, 301 (1977).
 - 12) P.J. Meffin, E.W. Robert, R.A. Winkle, S. Harapat, F.A. Peters and D.C. Harrison: Role of concentration-dependent plasma protein binding in disopyramide disposition. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **7**, 29 (1979).
 - 13) P.T. Meffin, P.M. Brooks and B.C. Sallustio: Alterations in prednisolone disposition as a result of time of administration, gender, and dose. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **17**, 395 (1984).
 - 14) G.H. Evans, A.S. Nies and D.G. Shand: The disposition of propranolol III. Decreased half-life and volume of distribution as a result of plasma binding in man, monkey, dog and rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **30**, 455 (1981).
 - 15) T.W. Guentert and S. Oie: Effect of plasma protein binding on quinidine kinetics in the rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **215**, 165 (1980).
 - 16) J.Y.F. Paterson, F.A. and Harrison: The splanchnic and hepatic uptake of cortisol in conscious and anesthetized sheep. *J. Endocrinol.*, **55**, 335 (1972).
 - 17) C.M. Lai and G. Levy: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XXX. Relationship between total clearance and serum protein binding of dicumarol in rats. *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1739 (1977).
 - 18) D. Trenk and E. Janchen: Effect of serum protein binding on pharmacokinetic and anticoagulant activity of phenocoumen in rat. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **8**, 177 (1980).
 - 19) A. Yacobi and Levy, G.: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulant XIV. Relationship between protein binding distribution and elimination kinetics of warfarin in rats. *J. Pharm. Sci.*, **64**, 1660 (1975).
 - 20) A. Yacobi, J.A. Udall, and G. Levy: Serum protein binding as a determinant of warfarin body clearance and anticoagulant effect. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **19**, 552 (1976).
 - 21) J.R. Bloomer, P.D. Berk, J. Vergalla and N.I. Berlin: Influence of albumin on the hepatic uptake of unconjugated bilirubin. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **45**, 505 (1973).
 - 22) K.J. Baker and S.E. Bradley: Binding of sulfobromophthalein (BSP) sodium by plasma albumin. Its role in hepatic BSP excretion. *J. Clin. Invest.*, **45**, 281 (1966).
 - 23) E.L. Forker and B.A. Luxon: Albumin helps mediate removal of taurocholate by rat liver. *J. Clin. Invest.*, **67**, 1517 (1981).
 - 24) R. Weisiger, J. Collan and R. Ockner: Receptor for albumin on the liver cell surface may mediate uptake of fatty acids and other albumin bound substances. *Science (Wash, DC)* **211**, 1948 (1981).
 - 25) J.L. Barnhart, B.L. Witt, W.G. Hardison and R.N. Berk: Uptake of iopanoic acid by isolated rat hepatocytes in primary culture. *Am. J. Physiol.*, **244**, G630 (1983).
 - 26) S.C. Tsao, Y. Sugiyama, Y. Sawada, S. Nagase, T. Iga and M. Hanano: Effect of albumin on hepatic uptake of warfarin in normal and analbumineinc mutant rats: Analysis by multiple indicator dilution method. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **14**, 51 (1986).
 - 27) S.C. Tsao, Y. Sugiyama, Y. Sawada, T. Iga and M. Hanano: Kinetic analysis of albumin-mediated uptake of warfarin by perfused rat liver. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **16**, 165 (1988).
 - 28) R.K. Ockner, R.A. Weisiger and J.L. Gollan: Hepatic uptake of albumin-bound substances: albumin receptor concept. *Am. J. Physiol.*, **245**, G13 (1983).
 - 29) R.A. Weisiger, J.L. Gollan and R.K. Ockner: An albumin receptor on the liver cell may mediate hepatic uptake of sulfobromophthalein and bilirubin: bound ligand, not free, is the major uptake determinant. *Gastroenterology*, **27**, 1065 (1980).

- 30) T. Mizuma, T. Horie and S. Awazu: The effect of albumin on the uptake of bromosulphthalein by isolated hepatocytes. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 90 (1985).
- 31) E.L. Forker and B.A. Luxon: Albumin-mediated transport of rose bengal by perfused rat liver: Kinetics of the reaction at the cell surface. *J. Clin. Invest.*, **72**, 1764 (1983).
- 32) E.L. Forker, and B.A. Luxon, M. Snell and W.O. Shurmantine: The effect of albumin binding on the hepatic transport of rose bengal: Surface-mediated dissociation of limited capacity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **233**, 342 (1982).
- 33) E.L. Forker and B.A. Luxon: Hepatic transport and binding of rose bengal in the presence of albumin and gamma globulin. *Am. J. Physiol.*, **248**, G702 (1985).
- 34) S.C. Tsao, Y. Sugiyama, K. Shinmura, Y. Sawada, S. Nagase, T. Iga and M. Hanano: Protein-mediated hepatic uptake of rose bengal. *Drug. Metabol. Disposit.*, **10**, 482 (1988).
- 35) D.B. Jones, M.S. Ching, R.A. Smallwood and J. Morgan: A Carrier protein receptor is not a prerequisite for avid hepatic elimination of highly bound compounds: A study of propranolol elimination by the isolated perfused rat liver. *Hepatology*, **5**, 590 (1985).
- 36) W.M. Pardridge, B.N. Premachandra and G. Fierer: Transport of thyroxin bound to human prealbumin into rat liver. *Am. J. Physiol.*, **248**, G545 (1985).
- 37) W.M. Pardridge and L.J. Mietus: Influx of thyroid hormones into rat liver *in vivo*: differential availability of thyroxine and triiodothyronine bound by plasma proteins. *J. Clin. Invest.*, **66**, 367 (1980).
- 38) W.M. Pardridge and L.J. Mietus: Transport of protein bound steroid hormones into liver *in vivo*. *Am. J. Physiol.*, **237**, E367 (1980).
- 39) A.B. Fleischer, W.O. Shurmantine and E.L. Forker: Mediated dissociation of albumin-palmitate complexes by hepatocyte monolayers. *Gastroenterology*, **88**, 1713 (1985).
- 40) W.B. Stremmel, B.J. Plotter and P.D. Berk: Studies of albumin binding to rat liver plasma membranes. Implications for the albumin receptor hypothesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, **756**, 20 (1983).
- 41) T. Mizuma, T. Horie, M. Hayashi and S. A. Awazu: Characterization of the interaction of albumin with isolated rat liver cell to reveal the mechanism of albumin-mediated hepatic transport. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, 244 (1986).
- 42) Y.R. Stollman, U. Gartner, L. Theilmann, N. Ohmi and A.W. Wolkoff: Hepatic bilirubin uptake in the isolated perfused rat liver is not facilitated by albumin binding. *J. Clin. Invest.*, **72**, 718 (1983).
- 43) M. Inoue, K. Okajima, S. Nagase and Y. Morine: Plasma clearance of BSP and its interaction with hepatic binding protein in normal and analbuminemic rats. Is plasma albumin essential for vectorial transport of organic anions in the liver? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 7654 (1983).
- 44) M. Inoue, E. Hirata, Y. Morino, S. Nagase, J.R. Chowdhury, N.R. Chowdhury and I.M. Arias: The role of albumin in the hepatic transport of bilirubin: Studies in mutant analbuminemic rats. *J. Biochem.*, **97**, 737 (1985).
- 45) E.L. Forker and B.A. Luxon: Hepatic transport kinetics and plasma disappearance curves: distributed modeling versus conventional approach. *Am. J. Physiol.*, **235**, E648 (1978).
- 46) T. Horie, T. Mizuma, S. Kasai and S. Awazu: Conformational change in plasma albumin due to interaction with isolated rat hepatocyte. *Am. J. Physiol.*, **254**, G465 (1988).
- 47) R.A. Weisiger: Dissociation from albumin: a potentially rate-limiting step in the clearance of substances by the liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 1563 (1985).
- 48) R.A. Weisiger, C.M. Zacks, N.D. Smith and J.L. Boyer: Effect of albumin binding on extraction of sulfobromophthalein by perfused elasmobranch liver: evidence for dissociation-

- limited uptake. *Hepatology*, **4**, 492 (1984).
- 49) R.A. Weisiger: Non-equilibrium binding and hepatic drug removal. In *Hochst Symposia Medica*, No. 1. 20: Protein Binding and Drug Transport, ed. by T.P. Tillement and E. Lindenlaub, pp. 293-310 F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1986.
- 50) E.L. Forker and B.A. Luxon: Effects of unstirred disse fluid, nonequilibrium binding, and surface-mediated dissociation on hepatic removal of albumin-bound organic anions. *Am. J. Physiol.*, **248**, G709 (1985).
- 51) R.A. Weisiger and W.L. Ma: Uptake of oleate from albumin solutions by rat liver. Failure to detect catalysis of the dissociation of oleate from albumin receptor. *J. Clin. Invest.*, **79**, 1070 (1987).
- 52) L. Bass and S. Keiding: Physiologically based models and strategic experiments in hepatic pharmacology. *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 1425 (1988).
- 53) R. Nunes, L. Kiang and P.D. Berk: "Albumin-receptor" uptake kinetics do not require an intact tubular architecture and are not specific for albumin. *Hepatology*, **5**, 1035 (1985).