

令和元年9月2日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16475

研究課題名(和文) リポソームを用いた腎毒性を低減させる新規造影剤の開発

研究課題名(英文) Development of a new iodine contrast agent to reduce nephrotoxicity using liposome

研究代表者

越智 朋子(Ochi, Tomoko)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：60773273

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はヨード造影剤の腎毒性を低減するため、リポソームにヨード造影剤を内包したイオメプロール含有リポソーム(IPL)を開発することである。脂質組成、混練の最適条件等を検討し、高いヨード濃度のIPLを安定して得ることに成功した。また、ラットの造影剤腎症モデルを作成し、IPLの腎機能に対する影響を通常のヨード造影剤と比較して評価したところ、通常のヨード造影剤では造影剤腎症を来したのに対し、IPLでは腎機能に影響が見られなかった。腎毒性を低減した新たなヨード造影剤であるIPLの開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
画像診断において高い精度を獲得するためには造影剤の使用が必須となっているが、その一つであるヨード造影剤は副作用に腎毒性を持つ。高齢者、慢性腎不全、糖尿病患者の増加が顕著な本邦においては解決が急務な重要な課題の一つであり、腎毒性を低減できるヨード造影剤の開発が期待されている。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop iomeprol-containing liposomes (IPL) in which an iodine contrast agent is encapsulated in a liposome in order to reduce the nephrotoxicity of the iodine contrast agent. We investigated lipid composition, optimum conditions of kneading, etc. and succeeded in stably obtaining high iodine concentration IPL. In addition, a contrast induced nephropathy model in rats was created, and the effect of IPL on renal function was evaluated in comparison with a conventional iodine contrast agent. Administration of IPL did not affect renal function, while administration of a conventional iodinated contrast agent resulted in contrast induced nephropathy. We succeeded in the development of IPL, a new iodine contrast agent with reduced nephrotoxicity.

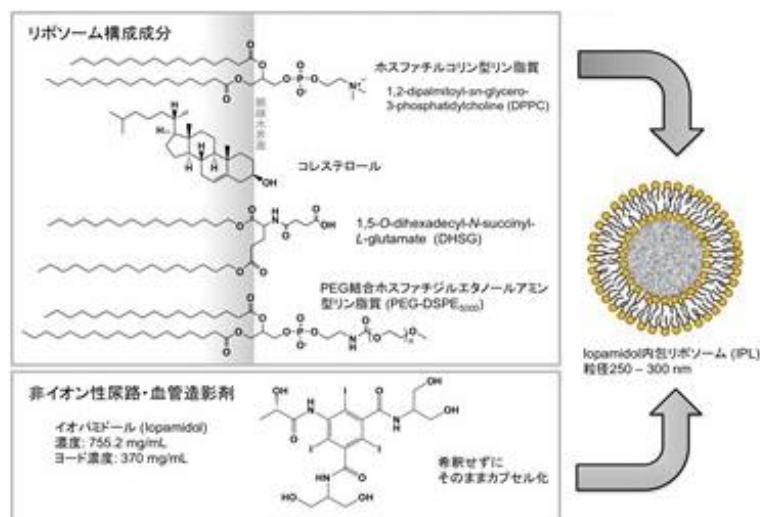
研究分野：radiology

キーワード：ヨード造影剤含有リポソーム リポソーム ヨード造影剤 ナノドラッグデリバリーシステム 造影剤 腎症

1. 研究開始当初の背景

画像診断は、医療分野において生命現象を可視化し、その情報により形態学的・生理学的に診断する技術であり、特にがん診療においては、治療ストラテジーの決定に必要不可欠である。さらに造影剤を用いることでその精度は高まり、様々な疾患の診断法に実用化されている。しかし、本邦では高齢化や慢性腎不全患者の増加が急速に進んでいるため、ヨード造影剤による腎障害が問題となっている。水溶性ヨード造影剤が排泄される際に起こす尿細管細胞の障害、尿細管の閉塞、腎虚血等が原因として指摘されている[1,2]。腎毒性が生じる機序は明確になっていないが、ヨード造影剤のもつ高浸透圧性、化学毒性、疎水性が糸球体を通過、尿細管を通過する際に関与していると考えられる。従って、腎毒性を低減させるヨード造影剤の開発は急務である。

生体膜の構成成分であるリン脂質分子が水中で集合形成したリポソームは、生体適合性の高いナノカプセルとして、遺伝子治療や抗がん剤など医療分野でドラッグデリバリーシステムとして実用化されている[3]。申請者らは、一般にリポソームの粒子径は100~300 nm程度に調節でき、腎糸球体で濾過されることは無いことに着目した。つまり、ヨード造影剤をリポソームに内包させて投与すれば、ヨード造影剤の腎毒性を回避できると考えるに至った。しかし、ヨード造影剤の一つであるイオパミドール溶液(イオパミロン 370)は、濃度が755.2 mg/mLと極めて高く、その粘度9.1cPは水の約10倍と高い。一般的なリポソーム調製法では、高粘度イオパミドール溶液を内包させることは難しい。研究協力者の酒井 宏水(奈良医大化学教室)は、これまでにリポソームを使った人工赤血球製剤の研究を進めてきた[3]。化学教室では様々なリポソーム調製法が検討され、極めて簡単に高濃度・高粘度イオパミドール溶液を内包したリポソームを大量に調製することが可能となった。予備試験の結果、イオパミドールのカプセル化効率は約60%、粒子径は250-300 nmを達成している。



申請者らは、放射線科医としてヨード造影剤の腎毒性について問題意識を持つ中で、上述のヨード造影剤内包リポソーム(IPL)の造影剤としての機能と、腎毒性回避の有無など安全性について検討し、新しいヨード造影剤の開発に繋げるべく、研究計画を立案した。

参考文献

1. Weisbord et al., Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3:1274-81
2. Laskey et al., Am Heart J. 2009;158:822-8
3. Torchilin, Nat Rev Drug Discov. 2005;4:145-60
4. Sakai et al., J Intern Med. 2008;263:4-15

2. 研究の目的

科学技術の進歩と共に精度の高い画像診断が求められ、そのためには造影剤の使用が必要である。一方、ヨード造影剤のもつ腎毒性の低減は、高齢者や慢性疾患患者が増加している本邦において、重要な課題であり、腎毒性を低減させたヨード造影剤の開発は急務である。本研究はリポソームにヨード造影剤を内包させることで、造影剤の基本的特性は維持しながら、腎毒性を低減させた新しいヨード造影剤である IPL を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

1. IPL の開発

IPL に用いるヨード造影剤として、よりヨード濃度の高いイオメプロール(イオメロン 400)を選択し、リポソームに含有させる方法を確認する。脂質成分として主成分のホスファチルコリン型リン脂質 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (DSPC)、脂質膜の安

定化剤であるコレステロール、負電荷を帯びた合成脂質：1,5-0-dihexadecyl-N-succinyl-L-glutamate (DHSG)、粒子表面をポリエチレングリコール(PEG, 分子量 5,000)で修飾させるため、PEG を結合したホスファチジルエタノールアミン型リン脂質(DSPE-PEG5000)から構成された脂質粉末を用いる。カプセル化効率の向上、安定的な大量調製を目指し、脂質組成、混練の最適条件の設定をおこなう。

II. IPL の腎機能への影響の評価

15 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラット(未処置または 5/6 腎摘出後)を以下の 7 群に分けて造影剤または生理食塩水を投与し、腎機能について検討する。(A) 未処置・生理食塩水投与群、(B) 未処置・イオパミドール通常量投与群、(C) 未処置・イオパミドール大量投与群、(D) 5/6 腎摘出・イオパミドール通常量投与群、(E) 5/6 腎摘出・イオパミドール大量投与群、(F) 5/6 腎摘出・IPL 通常量投与群、(G) 5/6 腎摘出・IPL 大量投与群。造影剤の通常量・大量は、1 回あたり、ヨード量でそれぞれ 0.74g/kg bw・3.7g/kg bw 相当とする。

生理食塩水を 1 週間経口投与した後、1 回目の造影剤/生理食塩水の経静脈的投与を行う。その後 48 時間の絶水を行い、2 回目の造影剤/生理食塩水の経静脈的投与を行う。その後 24 時間絶水を継続し、犠牲死させる。1 回目の造影剤/生理食塩水投与前と犠牲死時に採血を、2 回目の造影剤/生理食塩水投与後に採尿を行い、血液生化学検査・尿検査により腎機能への影響を評価する。また腎組織検査により尿細管への組織学的影響を評価する。

III. 細網内皮系に対する IPL 投与の影響に関する検討

一般にリポソームは腎糸球体を濾過せず、極めて長い血中滞留時間を示す。しかし最終的には、細網内皮系に移行し、主に肝クッパー細胞、脾臓マクロファージに貪食され、そこで分解され、分解物は血中に放出されると考えられる。イオパミドール・イオメプロールは紫外領域でそれぞれ $\lambda_{max} = 255\text{nm}, 244\text{nm}$ の特徴的な吸収があるため、これをもとに上述の実験モデルで 2 回目の造影剤投与後の血中・尿中のイオパミドール・イオメプロール濃度を算出し、IPL の体内動態を推定する。

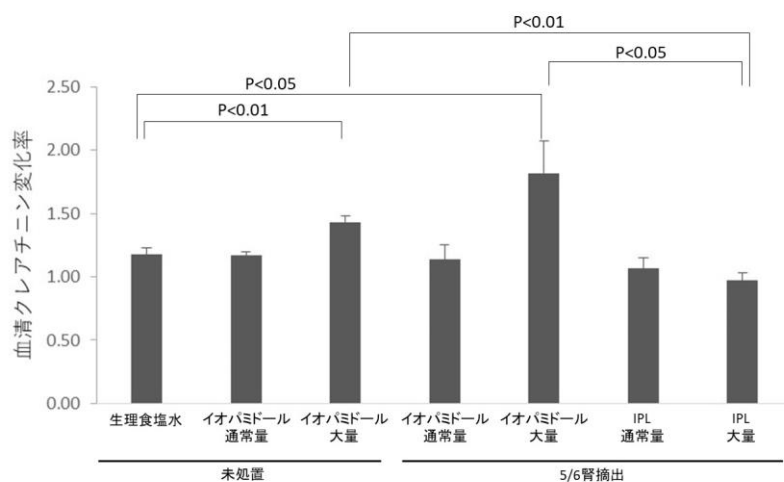
4. 研究成果

I.

IPL の調整に際し脂質組成、混練の条件の検討をおこなった結果、粒子径 268~285(平均 276)nm、イオメプロール濃度 0.4735~0.5425(平均 0.5153)M の高濃度の IPL を安定して調整可能となった。

II.

未処置ラット、5/6 腎摘出ラットにイオパミドール、IPL を投与し、腎機能への影響を評価した。この結果、イオパミドール大量投与群では、未処置ラット、5/6 腎摘出ラットともに造影剤投与後に腎機能の悪化が見られたが、腎不全モデルである 5/6 腎摘出ラットに IPL を大量に投与しても腎機能への影響は見られず、イオパミドールに比べて IPL の腎毒性が低いことが示された。



また、造影剤腎症の組織学的特徴とされる尿細管上皮の泡沫状変性の程度は、IPL 投与群がイオパミドール投与群と比べて低く、組織学的にも IPL の腎毒性が低減していることが示された。

III.

造影剤 2 回目投与後の血中・尿中のイオパミドール・イオメプロール濃度を測定した結果、イオパミドール投与群では尿中のみ造影剤が検出されたが、IPL 大量投与群では血中にも造影剤が検出され、IPL が長く血中に滞留することが示された。ただし、イオパミドール投与群より低濃度ではあるものの、IPL 投与群でも尿中に造影剤が検出された。リポソームを用いた人工赤血球での先行研究からは、リポソームは腎排泄されないであろうと予想されていた[5]

が、一致しない結果となった。今後、IPL の体内動態解明のため、さらなる検討が必要と考える。

参考文献

5. Taguchi et al., Drug Metab Dispos. 2009;37(7):1456-1463

現在、本研究の内容につき、論文投稿を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔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) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※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。