

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32713  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2021～2023  
課題番号：21K07574  
研究課題名（和文）肝細胞造影能を持つ新規X線造影剤の特性検討

研究課題名（英文）Characterization of a New X-ray Contrast Agent with Hepatocellular Contrast Potential

研究代表者  
松本 伸行（Matsumoto, Nobuyuki）  
聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60300951  
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）：本研究の目的は肝腎2臓器から排泄される新規造影剤の特性検討である。我々は、アシアロ糖蛋白受容体(ASGPR)に結合する側鎖を一つ配した候補化合物(RYO-1, MEG-1, MEG-2)を作成した。これらはin vitroでASGPRに結合し、in vivoで肝腎から排泄された。さらに、同じ側鎖を3個持つリード化合物(RYO-1, RYO-2, MEG-2, MEG-4)を合成し比較したところ、RYO-2、MEG-4の親和性はRYO-1, MEG-2より2-3倍高かった。また、RYO-2はMEG-4よりも受容体親和性が高いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
ヨード性造影剤による造影X線検査は診断の正確性を高め、重要な検査の一つとなっている。しかし、ヨード性造影剤は腎臓より排泄され、腎機能高度障害例では使用できない。腎機能低下症例は加齢と共に増加することが知られており、我が国の人口高齢化を考えると、腎障害を軽減した新規X線造影剤の開発は喫緊の課題と言える。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate the properties of new X-ray contrast agents with hepatocellular contrast capability. We focused on the asialoglycoprotein receptor (ASGPR) and prepared three candidate compounds (RYO-1, MEG-1, and MEG-2) with a side chain that binds to the ASGPR. These compounds bound to ASGPR in vitro and were excreted from the liver and kidney in vivo. In addition, lead compounds with three identical side chains (RYO-1, RYO-2, MEG-2, MEG-4) were synthesized and compared in terms of affinity for ASGPR. RYO-2 showed higher receptor affinity than MEG-4. Although the data are preliminary at this time, it is assumed that the ratio of RYO-2 excretion from the liver and kidney in healthy mice is approximately 3:2. Based on the above, RYO-2 is now considered a candidate for a new contrast agent, and further studies will be continued.

研究分野：消化器内科学

キーワード：造影剤

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヨード性造影剤による造影 X 線検査は診断の正確性を大きく高め、最も重要な検査の一つである。ヨード性造影剤はその全てが腎臓より排泄され、高齢者をはじめとする腎機能障害例では使用できない。我が国の人口高齢化を考えると、腎障害を軽減した新規 X 線造影剤の開発は喫緊の課題と言える。一般に、主要な薬物代謝経路は尿、および胆汁とされる。そこで我々はヨード性造影剤の基本骨格に肝細胞特異的な受容体に認識される構造を付与することで、胆汁から排泄される機能を付与することを想起した。

ヨード性造影剤は一般にベンゼン環に三つのヨウ素が付加されたトリヨードベンゼンを基本骨格としている。我々はリード化合物として、この基本構造に、末端にガラクトースをもつ3通りの側鎖を一つ配した三つの化合物(RY0-1、MEG-1、MEG-2)を作成した。これらを用いて、肝がん細胞株 HepG2 を用い、肝細胞特異的に発現しているアシアロ糖タンパク受容体を介した取り込み阻害実験を行ったところ、三つのリード化合物は、いずれも放射性ラベルしたリガンドの取り込みを競合的に阻害することが示された。また、受容体を持たない膵がん細胞株 Panc-1 を用いて同様の実験を行い、この効果が肝細胞特異的であることを確認した。次に、MEG-1 を用いて動物実験を行った。具体的には 52mg の MEG-1 を PBS に希釈し、マウスの尾静脈より注入し、経時的に CT を撮像した。1 時間後の画像にて膀胱内と腸管内への造影剤排出を認め、肝腎二系統からの造影剤排泄が確認された。MEG-2 でも同様の効果を確認することができた。

以上の結果から、X 線造影剤の基本構造にガラクトースを末端に持つ側鎖を付与することで、肝細胞特異的アシアロ糖蛋白受容体から肝細胞に取り込まれ、肝腎二系統より排泄される機能を持たせられることが実証された。

### 2. 研究の目的

肝腎二系統から排泄される新規造影剤の化学構造と挙動の関係を詳細に検討する。

### 3. 研究の方法

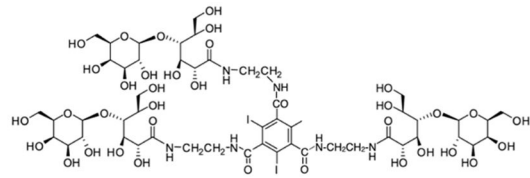
- (1) リード化合物の最適化：我々がこれまでに作成した新規造影剤のリード化合物、そしてそれらを基に最適化した造影剤候補化合物を作成する。
- (2) 水溶液内での存在様式シミュレーション：本造影剤は OH 基を豊富に含むため、分子の周囲に水分子との相互作用が水中での挙動挙動を大きく左右する。また、水分子がヨードを覆い隠すことによりヨード過敏症によるアナフィラキシーショックのリスクを低減する可能性がある。この点について、SYBYL-X ソフトウェア (米 Certara 社) により分子動力的シミュレーションを行う。
- (3) 細胞内取り込み阻害実験によるアシアロ糖蛋白受容体親和性試験：側鎖の違いによる化学特性の違いを詳細に検討するため、これまでに確立した Cell surface binding assay の実験系を用いて評価する。
- (4) 候補物質をマウスの尾静脈から注入し、CT 画像を撮像して肝臓、腎臓からの排泄割合を定量する。

#### 4. 研究成果

(1) アシアロ糖蛋白受容体は三量体を形成し、そのガラクトース認識部位は互いに 15.25 の間隔で正三角形を形成している。

このため、リード化合物の最適化にあたってはガラクトースを末端に持つ側鎖を三個持ち、三つの側鎖が独立して受容体に結合できる構造が望ましいと考えられた。RYO1, MEG2 と同じ側鎖を三個持つ RYO2, MEG4 を合成した。(図1)

RYO-2



MEG-4

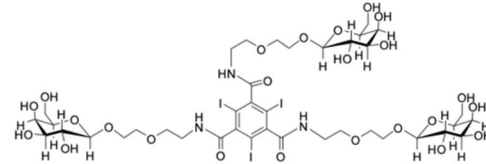


図1

(2) SYBYL-Xによるシミュレーションでは3つの側鎖は互いに相互作用することなく、独立して水和を受けることが示された。(図2)

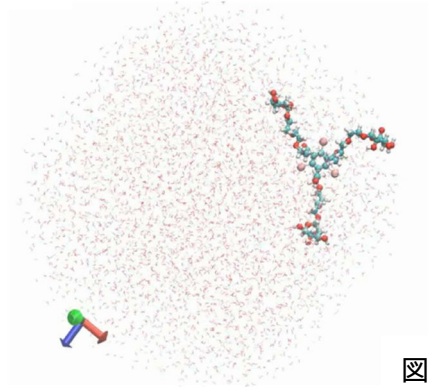


図2

(3) Cell surface binding assayで受容体親和性を比較すると、RYO2, MEG4はそれぞれRYO1, MEG2と比較して、親和性がいずれも2-3倍高いことが示された。(図3) また、RYO2とMEG4を比較すると、RYO2の方が受容体親和性が高いことが示された。(図4)

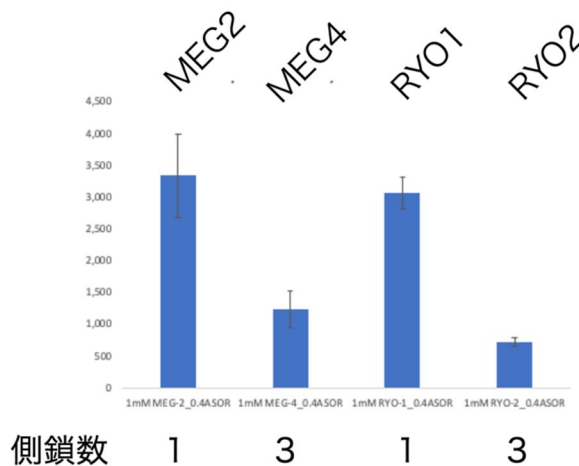


図3

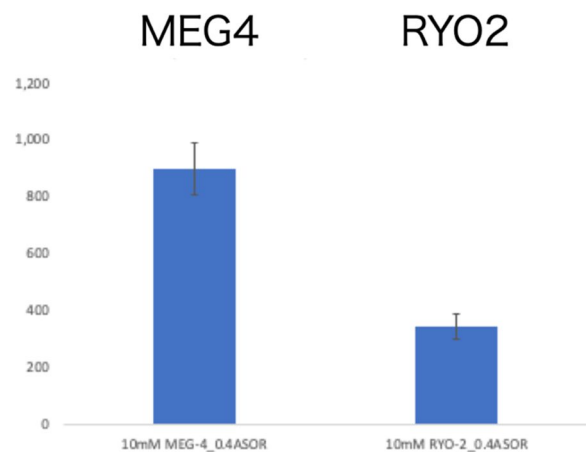


図4

(4)我々はマウス CT 画像の造影前後でのサブトラクションシステムを開発し、実験をおこなった。現時点では preliminary なデータではあるが、健常マウスにおける RYO2 の肝臓、腎臓からの排泄割合はおおよそ3対2であることが想定されている。

以上から、RYO2 を現時点の新規造影剤候補物質とし、さらなる検討を続けていく予定としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>木檜陽大、森谷愛美、窪田 椋、及川律子、南部伸孝、松本伸行、鈴木由美子 |
| 2. 発表標題<br>ガラクトース残機を有するヨード造影剤の合成と機能            |
| 3. 学会等名<br>日本化学会 第102春季年会(2022)                |
| 4. 発表年<br>2022年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>松本伸行、見原雄貴、得平卓也、吉田良仁、黒木優一郎、高橋秀明、立石敬介  |
| 2. 発表標題<br>アジア口糖蛋白受容体を標的とした肝細胞造影機能を持つヨード性造影剤の開発 |
| 3. 学会等名<br>第33回日本消化器癌発生学会総会                     |
| 4. 発表年<br>2022年                                 |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松本伸行、見原雄貴、得平卓也、吉田良仁、黒木雄一郎、高橋秀明、立石敬介 |
| 2. 発表標題<br>肝細胞造影機能を持つヨード性造影剤の新規開発              |
| 3. 学会等名<br>第44回日本肝臓学会東部会                       |
| 4. 発表年<br>2022年                                |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                       | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)               | 備考 |
|-------|---|-------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 鈴木 由美子<br><br>(Suzuki Yumiko)<br><br>(20295546) | 上智大学・理工学部・教授<br><br><br><br>(32621) |    |

6. 研究組織（つづき）

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                     | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)               | 備考 |
|-------------------|---|-------------------------------------|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 南部 伸孝<br><br>(Nambu Shinko)<br><br>(00249955) | 上智大学・理工学部・教授<br><br><br><br>(32621) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|         |         |