

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32713

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670388

研究課題名(和文)トランスポーター選択性に基づく肝腎二系統排泄型新規X線造影剤の開発

研究課題名(英文)Development of a new Iodine contrast agent excreted into bile and urine based on the transporter selectivity

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) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：既存のヨード性造影剤Iohexolに側鎖Aを付与したI-A，側鎖Bを付与したI-Bを作製し、in vitro及びin vivoの検討を行った。

In vitroでの検討としてOATPトランスポーターによる化合物輸送実験を行い、I-A、I-BともにControlに比して、OATP1B1、OATP1B3を介した基質の取り込みを有意に抑制した。In vivoの検討では、I-Bは粘稠度が高いため動物への投与はできないが、I-Aは125mg/ml以下の濃度で投与可能で、尿管のみならず、胆汁を介して腸管内に排泄されることが確認された。

現在I-Aについては特許申請準備中である。

研究成果の概要(英文)：We designed two candidates of a new iodine-containing contrast agent by giving a side chain to Iohexol. We named them as I-A, and I-B. They were applied to chemical transport experiment. I-A significantly inhibited the substrate uptake from OATP1B3 and OATP2B1. I-B strongly inhibited the substrate uptake from OATP1B1, 1B3, and 2B1. Iohexol did not inhibit the substrate uptake from any OATP transporters. Animal experiment revealed bile duct excretion of I-A. We confirmed if the density of I-A is less than 125mg/ml, it can be administered to mice without any obvious side effects. However we could not identify the bile duct excretion of I-B. Because of the high viscosity of I-B dissolved into water, mice could not survive after the administration of I-B. We successfully gave an existing Iodine contrast agent a new function to accumulate in cells through hepatocyte specific transporters. And one of them was excreted into bile.

研究分野：肝臓病学

キーワード：造影剤

### 1. 研究開始当初の背景

現代医学では、正確な診断に基づく的確な治療により初めて治療予後の改善が得られる。この点でヨード性 X 線造影剤を用いた画像検査は診断の正確性を大きく高め、多くの診療科にとり最も重要な検査の一つとなっている。しかし、ヨード性造影剤の重大な副作用に造影剤腎症があり、近年大きな問題となっている。2012 年には腎障害患者におけるヨード性造影剤使用に関するガイドラインが日本腎臓学会、日本医学放射線学会、日本循環器学会から共同で発行された。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。

一方、MRI では側鎖を加え修飾を施すことでその約 50% が肝細胞特異的トランスポーターを介して肝細胞に取り込まれ、胆汁から排泄される造影剤が開発された。

### 2. 研究の目的

我々は今回の検討で、既存のヨード性造影剤に肝細胞に親和性を持つ側鎖を付与することにより、肝細胞特異的トランスポーターを介して肝細胞に取り込まれる機能を付与し、腎機能負担を軽減する新たな造影剤を開発することを目的とした。

### 3. 研究の方法

既存のヨード性造影剤 (Iohexol) に側鎖 A、側鎖 B を付与し、I-A、I-B を作成した。この I-A、I-B を用いて以下の検討を行った。

#### 3-1) in vitro の検討

ヒト胎児腎細胞由来 HEK293 細胞に肝細胞特異的トランスポーターを安定発現させた細胞株に輸送基質の 3H ラベル体を 2 分間暴露して取込ませ、放射性同位体のカウントを測定して基質細胞内蓄積量を計測した。ここに I-A、I-B を混入させることで、基質細胞内取込みの量依存的な競合阻害を評価した。

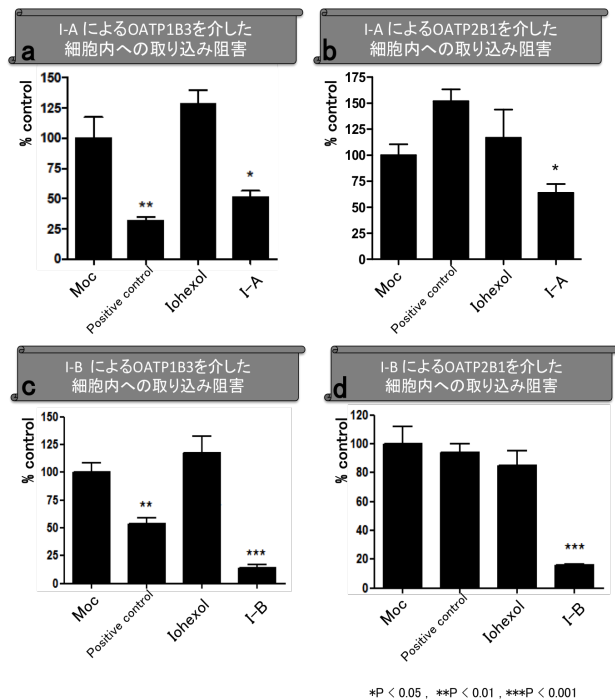
#### 3-2) in vivo の検討

I-A、I-B を経尾静脈的に投与し CT を撮像し胆汁と尿への排泄を確認した。I-A について

は、脂肪性肝炎から肝細胞癌を発癌するマウスモデルを用いて同様の検討を行い、腫瘍部と非腫瘍部における CT 値の変化を解析した。加えて、I-A の濃度を変えて静脈投与を行い、副作用なく投与できる濃度の検討を行った。

### 4. 研究成果

I-A は安定で水溶性を維持していた。I-B は水溶性に難があるが、DMSO、エタノールに溶解後、水で希釈可能であった。I-A (図 a, b)、I-B (図 c, d) とともに OATP1B3、OATP2B1 からの基質取り込みを有意に阻害した。



また I-A、I-B は EOB の付与された位置により 5 つの構造異性体を含む。我々は HPLC による構造異性体の分離を試み、I-A1、I-A2 の二つの構造異性体に分離することに成功した。I-B を HPLC で分離することはできなかった。この I-A1、I-A2 を in vitro で Positive control と比較したところ OATP1B3 を介した E217BG の取込は I-A1、I-A2 で同様に約 50% の阻害、OATP2B1 を介した Estrone Sulfate の取込は I-A1、I-A2 で同様に約 40% の阻害で差は認められなかったが、OATP1B1 を介する E217BG の取込は Positive control が約 20% の阻害を認めたのに対し、I-A1 では約 40%、I-A2 では約 80% の阻害を認めた。以上から

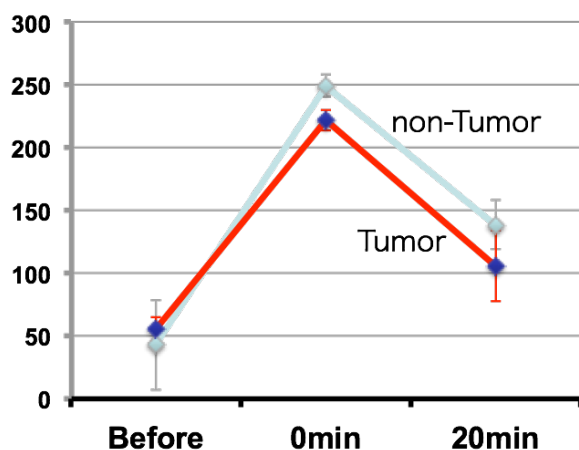
そくさAの位置によりトランスポーター親和性が異なる可能性が示された。

また、以上の in vitro の検討で I-A, I-B に明らかな細胞毒性は認められなかった。

動物実験では静注後 20 分の CT にて I-A の胆汁を介した腸管内への排泄と尿への排泄を確認できた。



また、肝細胞癌を発症するマウスモデルでの検討では、コントロール造影剤では非腫瘍部と腫瘍部に造影効果の差は認められなかったが、I-A は腫瘍部に比して非腫瘍部でより造影効果が強くなることが確認された。



実臨床においても肝細胞癌では肝特異的トランスポーターの発現低下が認められることから、I-A は肝細胞癌の陰性造影剤として有用である可能性が示された。

I-B は水に難溶性で粘稠性が高く、投与と共に血管内で血栓形成をきたし、マウスが死亡したため解析を終了した。

## 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 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)

出願準備中

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)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

(2)研究分担者

ジュタバ プロムスク (JUTABHA Promsuk)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：90541748

(3)連携研究者

安西 尚彦 (ANZAI Naohiko)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70276054