

《原 著》

アシアロ糖タンパク—アシアロ糖タンパク受容体系を 応用した新しい肝機能検査法の開発

—第2報 標識ネオ糖タンパクのクリアランス定量性の検討—

河 相吉* 羽間 弘** 小島 通真* 西山 豊*
 中沢 緑* 長谷川武夫* 久保田佳嗣** 鶴野 弘明****
 田代 裕*** 鮫島 美子** 田中 敬正*

要旨 アシアロ糖タンパク (ASGP) は、肝細胞膜に存在する受容体に結合し、特異的に肝に摂取代謝される。この ASGP と生理的に等価であるネオ糖タンパクの RI 標識製剤を作製し、その肝臓への取り込みの定量性を検討した。 ^{125}I -Galactose-Human Serum Albumin (GHSA) と ASGP 受容体を binding assay により、両者の結合は濃度依存性であることを証明した。正常家兎門脈内投与における初回循環肝除去率は、投与 GHSA に対し、 $r = -0.95$ と良好な濃度依存性を示した。正常およびガラクトサミン急性肝障害ラットに末梢投与 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA の心、肝計測曲線について、two compartment analysis を用い、クリアランスパラメータ K_d , K_u , T_{max} を設定した。これらのパラメータは投与濃度依存性を示し、ASGP 受容体活性とは 0.1% 以下の危険率で有意な相関関係が成立した。以上より標識 GHSA は肝 ASGP 受容体量と定量的結合関係を示し、肝機能を評価するスキャン製剤として有用であると考えられた。

I. はじめに

肝・胆道シンチグラフィーにより肝の摂取排泄機能を知ろうとする試みは、1955 年 Taplin らにより開発された ^{131}I -rose bengal によりはじめてなされた¹⁾。最近では低被曝線量の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識の肝・胆道スキャン剤が開発され、肝実質機能診断に応用されている^{2,3)}。

一方、肝臓には、アシアロ糖タンパク質 (ASGP と略す) の糖鎖末端を識別する受容体が存在し⁴⁾、

これが種々の肝疾患で減少することが明らかにされた^{5,6)}。この ASGP と生理的に等価に受容体に取り込まれる、合成糖タンパク質であるネオ糖タンパク質⁷⁾を RI 標識し、これを利用した肝シンチグラフィについては Vera らの報告^{8,9)}をみるのみであるが、本剤は従来のスキャン剤と異なり、特異的受容体を介して肝細胞膜に定量的に結合し細胞内に取り込まれると考えられ、肝機能を直接反映する全く新しい定量的診断用製剤となりうると考えられる。今回われわれは、標識ネオ糖タンパクの肝細胞膜受容体に対する結合の定量性を証明するために、標識ネオ糖タンパクと ASGP 受容体の receptor assay ならびに門脈内投与初回循環肝除去率の測定により、その定量性の確認を行った。また、クリアランスに応用して、動態曲線解析を加え同様に定量的評価を行い、標識ネオ糖タンパクのスキャン製剤としての有用性を証明したので報告する。

* 関西医科大学放射線科

** 同 第三内科

*** 同 第一生理

**** 日本メディフィジックス社

受付：60 年 12 月 2 日

最終稿受付：61 年 4 月 8 日

別刷請求先：大阪府守口市文園町 1 (番 570)

関西医科大学放射線科

河 相吉

II. 対象と方法

(1) ^{99m}Tc , ^{123}I および ^{125}I 標識ネオ糖タンパク

既報¹⁰⁾で述べたように、Imidate法⁷⁾によりガラクトースをヒト血清アルブミン(HSA)に、32個カップリングさせたネオ糖タンパク(GHSA)に、 SnCl_2 を還元剤として ^{99m}Tc を直接的に標識した。GHSAの ^{123}I 標識は、ヨードゲン(1, 3, 4, 6-tetrachloro-3 α , 6 α -diphenyl glycouril)を用いて行った¹¹⁾。この場合の標識率は95%以上であり、比放射能は1.5~2.5 mCi/mg GHSAであった。GHSAの ^{125}I 標識はChloramin T法¹²⁾により行った。

(2) GHSA-ASGP受容体の Binding Assay

Hudginらの方法¹³⁾に従って、GHSAとセファロース4Bゲルをカップリングさせたアフィニティカラムを用いて、ラット肝臓中のASGP受容体の精製を行った。

^{125}I -GHSAとASGP受容体のbinding assayは、Hudginらの“Assay-A法”¹³⁾に準じて、 ^{125}I -GHSAを用いて、competitive radioreceptor assayにより測定した。また、membrane assayはラット肝臓よりEhrenreichらの方法¹⁴⁾により、Total microsome分画を抽出して同様にbinding assayした。タンパクの定量は、Lowryらの方法¹⁵⁾により行った。

(3) ^{99m}Tc -GHSAの肝除去率測定

正常家兎、体重約3,500gをネンプタール0.5ml/kg体重の静注麻酔後、仰臥位にて開腹し、上腸間膜静脈より、26Gのテフロンカテーテルを肝門部まで挿入し、 ^{99m}Tc -GHSAを急速注入後0.5秒ごとのシンチカメラ画像を1分間収集し、肝の放射能-時間曲線を作製した。計測曲線はFig. 1に示すように、 ^{99m}Tc -GHSA注入直後より急速に上昇してピークに達し、plateauとなり、その後急速に下降して、再びplateauとなり、再循環による2度目の山を描く。この注入直後の最初のピーク値Pは、 ^{99m}Tc -GHSAの注入全量を反映し、次に続く再循環相以前の底値Qは、肝臓における ^{99m}Tc -GHSAの初回循環における摂取量を反映するものと考えられる。そこで、 $Q/P \times 100$

100(%)を ^{99m}Tc -GHSAの初回循環での肝除去率として設定し、種々の投与量における肝除去率を測定した。

(4) ^{99m}Tc および ^{125}I -GHSAクリアランス曲線と末梢血中消失における両者の比較

正常および肝障害ラットに、 ^{99m}Tc -GHSAと ^{125}I -GHSAをそれぞれ50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重、左右頸静脈より同時に投与し、経時的末梢血採血サンプルのオートガムマ測定により ^{125}I -GHSAのT1/2を、 γ カメラによる心クリアランス曲線の測定により ^{99m}Tc -GHSAのT1/2を求め、両者の関係を見た。

(5) ^{99m}Tc -GHSAの排泄経路

正常ラットおよび胆管結紉ラットに ^{99m}Tc -GHSAを頸静脈より50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重投与し、経時的に撮像して両者を比較、排泄経路の検討を行った。

(6) ラット肝障害モデルの作製と、標識GHSAのクリアランス測定

ラット頸静脈より ^{99m}Tc -GHSAを急速静注し、10秒ごとのシンチカメラ画像を25分間収集した。収集終了後、テレビモニター上にて、心臓部および肝臓部に、おのおの関心領域を設定し、クリア

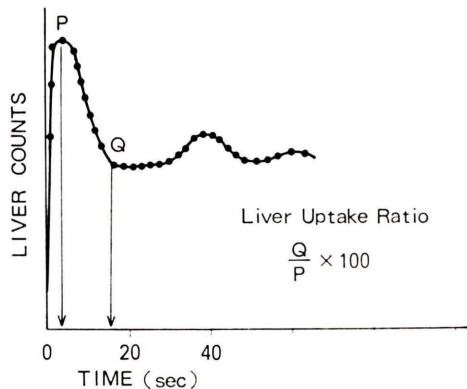


Fig. 1 Hepatic time-activity curve of ^{99m}Tc -GHSA injected into portal vein. P represents total injected dose and Q represents liver uptake dose in the first pass. Liver uptake ratio ($Q/P \times 100$) represents the percent of liver uptake dose to total dose.

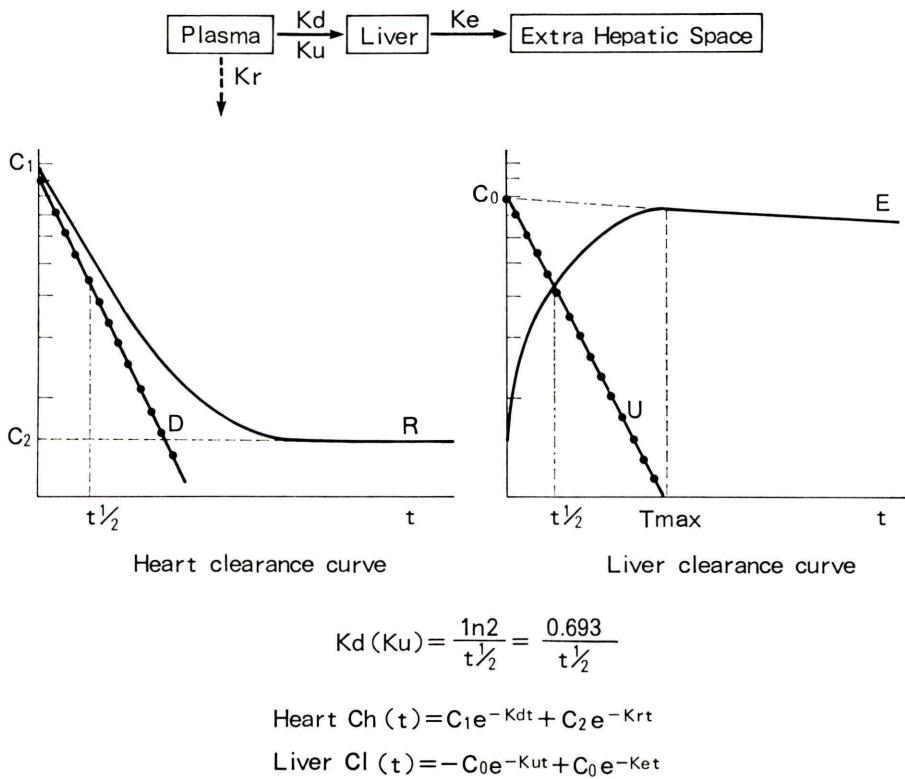


Fig. 2 The analysis of heart and liver clearance of ^{99m}Tc -GHSA by the use of two compartment model. Each curves were analyzed by the two compartment model, and parameters were obtained: ^{99m}Tc -GHSA disappearance rate (K_d), residual rate (K_r), hepatic uptake rate (K_u), hepatic excretion rate (K_e) and peak time of liver clearance curve (T_{\max}).

ラヌス曲線を作製し, Fig. 2 に示した。この曲線は上田らの報告¹⁶⁾にもとづいて, Two compartment model とし, 半直線部分より心残留率 K_r と肝外放出率 K_e を, 最小二乗法によるコンピュータ計算にて求め, これらの直線と計測曲線との差から, 心消失率 K_d , および肝摂取率 K_u を求めた。さらに肝クリアラヌス曲線がピークに達する時間を T_{\max} として, K_d , K_u , T_{\max} を ^{99m}Tc -GHSA のクリアラヌスパラメータとした。対象としては, ウィスター系雄性ラット体重 200 g に D-galactosamine 0.5~0.9 g/kg 体重, 腹腔内 1 回投与後 48 時間目のものを肝障害モデルとし, ^{99m}Tc -GHSA クリアラヌスパラメータを求めた。

以上のデータ収集およびパラメータ算出はデジタル γ カメラ (東芝 GCA-90B) を用いて行った。

III. 結 果

(1) レセプターアッセイにより検討した ^{125}I -GHSA の ASGP 受容体への定量的結合

^{125}I -GHSA の濃度を 250, 600, 900, 1,800 ng と変化させて, ASGP 受容体量 0.4, 1.5, 3, 4.5 μg とおのおの binding assay を行った。Fig. 3 は ^{125}I -GHSA 各濃度において横軸に binding assay に加えた ASGP 受容体量, 縦軸に binding assay によって ASGP 受容体と結合した ^{125}I -GHSA 量を示す。結合した ^{125}I -GHSA は加えた ASGP 受

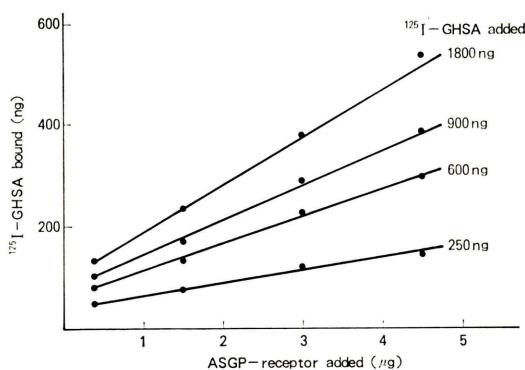


Fig. 3 Linearity of binding between ^{125}I -GHSA and ASGP receptor. ASGP receptor was purified according to the procedure of Hudgin, et al¹³. As for the binding assay, competitive radio-receptor assay was carried out according to "Assay-A" of Hudgin, et al¹³. At each amounts of ASGP receptor (0.4–4.5 μg), the ^{125}I -GHSA was varied from 250–1,800 ng per incubation of the binding assay.

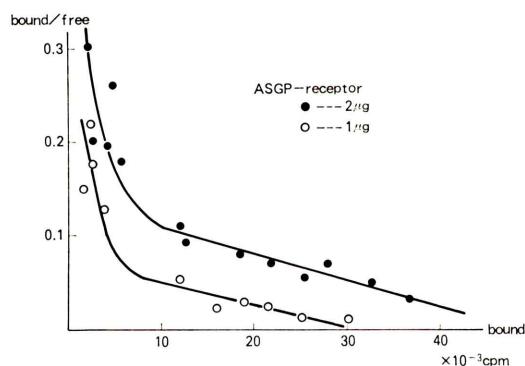


Fig. 4 Scatchard plot of binding between ^{125}I -GHSA and ASGP receptor.

容体量に正比例して増加し, ^{125}I -GHSA の ASGP 受容体への結合は濃度依存性を示した。この両者間の結合を解析するため Scatchard plot を作製した (Fig. 4). plot は ASGP 受容体には少なくとも 2 種類の親和性の異なる結合部位が存在することを示しているが, 結合平衡の正確な算定はできなかった。 ^{125}I -GHSA の ASGP 受容体への結合の定量性については membrane assay においても同様に確認された (Fig. 5)。 ^{125}I -GHSA 1 μg に

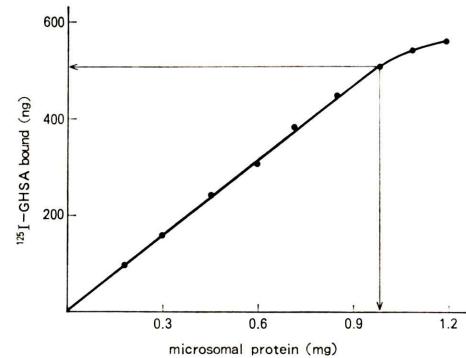


Fig. 5 Linearity of binding between ^{125}I -GHSA and microsomal protein. The rat liver was homogenized and microsome was prepared according to Ehrenreich, et al¹⁴. The amount of microsomal protein was determined as described by Lowry, et al¹⁵. Various amounts of microsomal protein were added to ^{125}I -GHSA 1 μg as indicated on the respective curves.

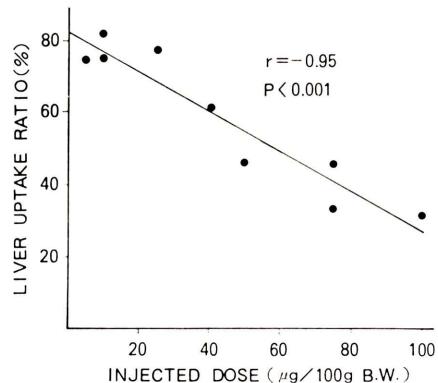


Fig. 6 Linearity of liver uptake ratio. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA was injected varied from 5 to 100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ B.W. into portal vein, and at each dose, liver uptake ratio was measured.

microsomal protein を漸増させて binding assay した結果, microsomal protein が 1 mg 以下の範囲で直線関係を示した。

(2) $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA の肝除去率より検討した GHSA の ASGP 受容体への定量的結合

家兎門脈内に, 種々の量の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA を投与して測定した肝除去率を Fig. 6 に示す。肝除去

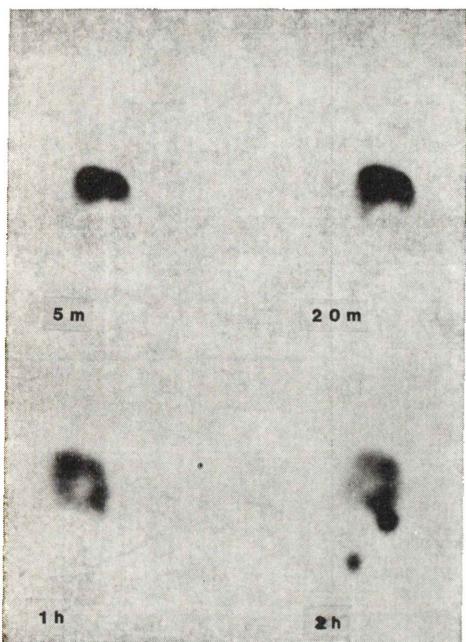


Fig. 7 Serial imaging of ^{99m}Tc -GHSA in the normal rat.

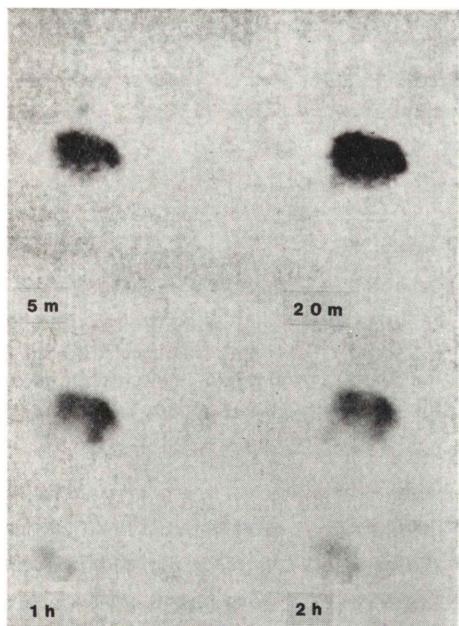


Fig. 8 Serial imaging of ^{99m}Tc -GHSA in the bile duct ligated rat.

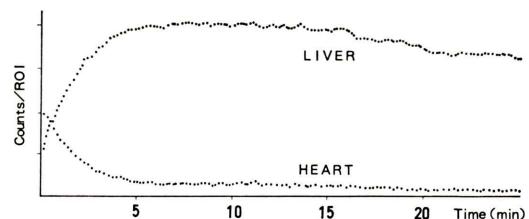


Fig. 9 ^{99m}Tc -GHSA time-activity curves of the heart and liver (Injected dose 50 $\mu\text{g}/100 \text{ g B.W.}$).

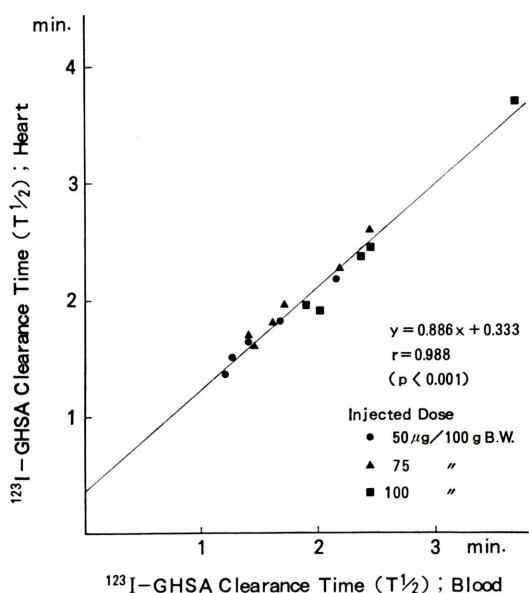


Fig. 10 Relationship between the clearance $T_{1/2}$ sampling from peripheral blood and those measuring from the heart clearance curve. ^{123}I -GHSA (50, 75 and 100 $\mu\text{g}/100 \text{ g B.W.}$) was injected intravenously, and the blood samples were taken to measure the radioactivities. At the same time, the heart clearance curve was measured, and the each clearance curve $T_{1/2}$ were compared.

率は 5~100 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ 体重の範囲における ^{99m}Tc -GHSA と $r = -0.95$ ($p < 0.001$) と密に相関し、 ^{99m}Tc -GHSA は、濃度依存性に肝に摂取されることを示した。

(3) ^{99m}Tc -GHSA の正常および胆管結紮ラットにおける経時像の相違

^{99m}Tc -GHSA 50 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ 体重を、ラット頸静

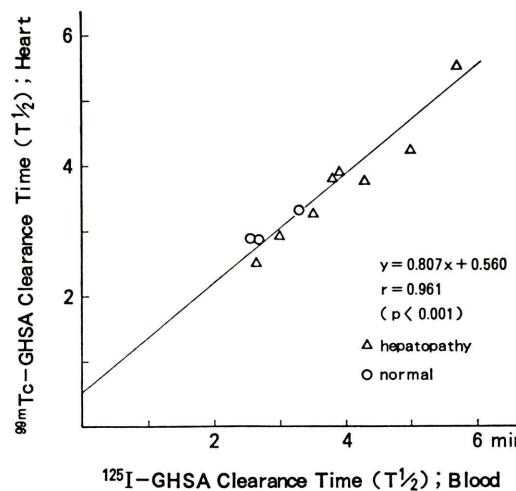


Fig. 11 Relationship between the clearance $T_{1/2}$ of ^{125}I -GHSA sampling from peripheral blood and those of ^{99m}Tc -GHSA measuring from the heart clearance curve. ^{125}I -GHSA $50 \mu\text{g}/100 \text{B.W.}$ and ^{99m}Tc -GHSA $50 \mu\text{g}/100 \text{g B.W.}$ were injected at a time into normal and D-galactosamine treated rats, and the blood samples were taken to measure the clearance $T_{1/2}$ of ^{125}I -GHSA, and were compared with the clearance $T_{1/2}$ of ^{99m}Tc -GHSA.

脈より投与した。正常ラット (Fig. 7) では、2 時間後像で肝下方に集積増強を認め、胆管を介して腸管への排泄像と考えられた。総胆管結紮後 2 日後ラット (Fig. 8) では、肝の描出は障害されていないが、腸管への排泄像は示されず、かわりに、腎・尿路系の描出を認めた。

(4) ^{99m}Tc および I 標識 GHSA クリアランス曲線の作製

^{99m}Tc -GHSA $50 \mu\text{g}/100 \text{g}$ 体重を、正常ラット頸静脈より急速注入後、25分間の心および肝のクリアランス曲線を Fig. 9 に示す。心臓における計数値は、注入後急速に低下し、一方、肝臓における計数値は、これと鏡像を呈して増加し、ピーク到達後は、ごくゆるやかに減少してゆく。この間、腎、膀胱などの描出は認められなかった。ここで、心クリアランス曲線が、循環血液中濃度を示すことは、 ^{123}I -GHSA 投与後、シンチカメラ画

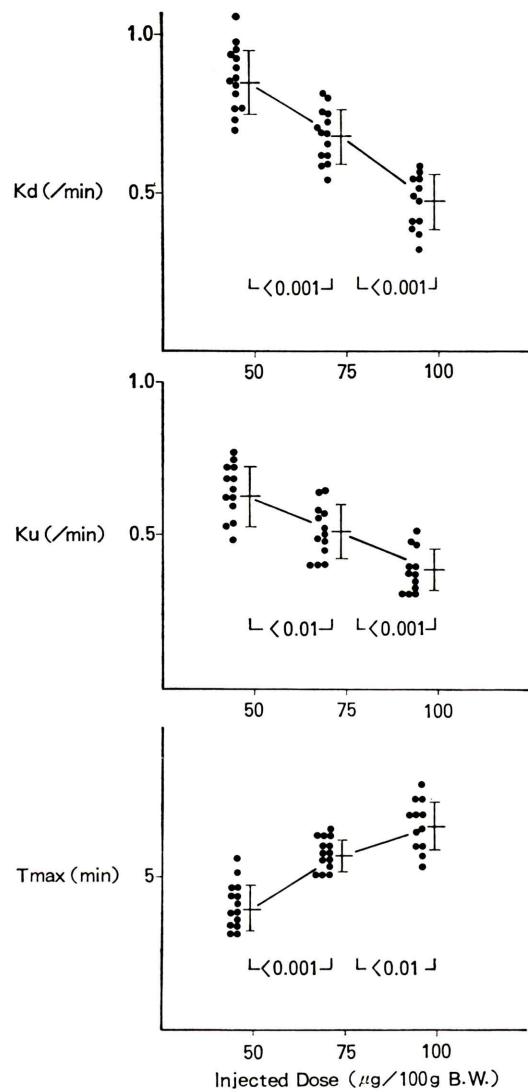


Fig. 12 Dose dependence of the ^{99m}Tc -GHSA clearance. ^{99m}Tc -GHSA was injected varied from $50-100 \mu\text{g}/100 \text{g B.W.}$, and at each dose, the parameters (K_d , K_u and T_{max}) were compared.

像を作製しながら、頸静脈より経時的に採血してその放射能をオートガンマにより測定して得たクリアランス $T_{1/2}$ と、 ^{123}I -GHSA の心クリアランス曲線 $T_{1/2}$ が一致することより確認している (Fig. 10)。左右頸静脈より同時に投与した ^{99m}Tc -

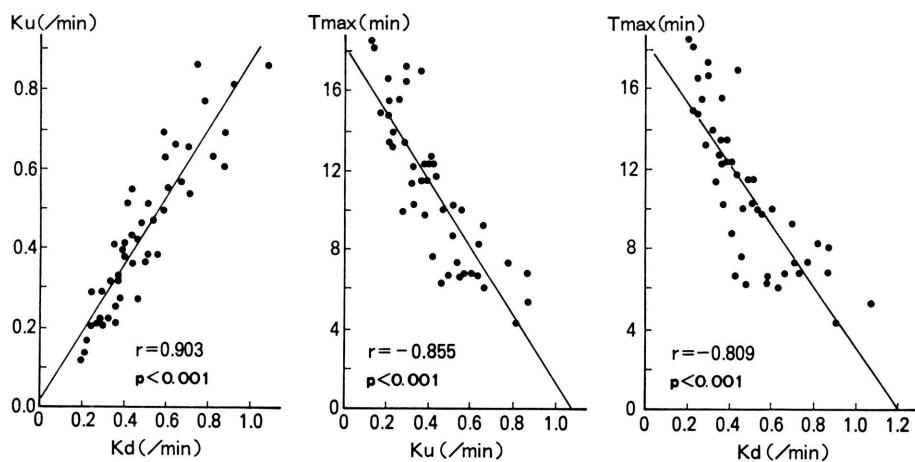


Fig. 13 Correlation between K_d , K_u and T_{max} . $^{99m}\text{Tc-GHSA}$ 50 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ B.W. was injected into normal and D-galactosamine treated rats. The clearance parameters K_d , K_u and T_{max} were measured, and compared each other.

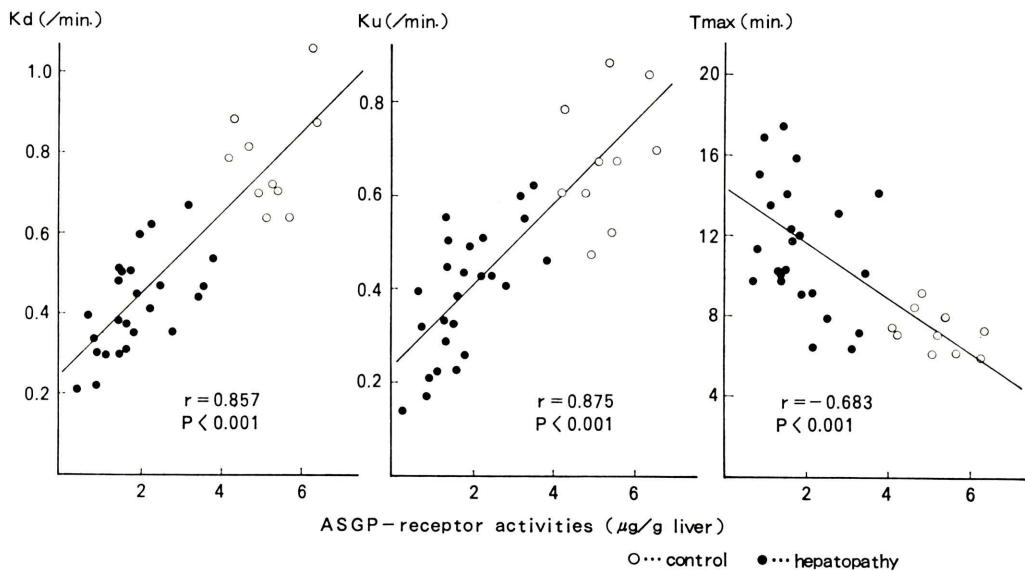


Fig. 14 Relationship between ASGP-receptor activities and the parameters (K_d , K_u and T_{max}).

GHSA と $^{125}\text{I-GHSA}$ の $T_{1/2}$ はよく一致し, (Fig. 11), 両者は等しく循環血液中より消失して肝臓に摂取されることがわかった。

(5) $^{99m}\text{Tc-GHSA}$ クリアランスの ASGP 受容体活性との比較

正常ラットにおいて, $^{99m}\text{Tc-GHSA}$ 投与量を,

50, 75, 100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 体重と変動させた場合の指標 K_d , K_u , T_{max} を見た (Fig. 12). 3 者はほぼ直線的に濃度依存性を示した。

次に, 正常および肝障害ラットにおける, 各指標相互の関係を Fig. 13 に示したが, 指標相互の相関関係は K_d と K_u $r = +0.903$, K_u と T_{max} $r =$

-0.855 , K_d と T_{max} は -0.809 でいずれも危険率 0.1% 以下で有意の相互間の関係が成立した。次に各指標と ASGP 受容体活性との関係を Fig. 14 に示した。ASGP 受容体と K_d $r=0.857$, K_u とは $r=0.875$, T_{max} とは $r=-0.683$ と、おのおの危険率 0.1% 以下で相関関係が認められた。

IV. 考 察

ある物質の肝における摂取排泄機能を、そのクリアランスされる速度で表わす際に、クリアランス速度は、有効肝血流量と、物質の肝における除去率の 2 つの因子により規定される。一方、レセプターを介してある物質が肝で除去される時に、レセプターとその物質の結合は、レセプター数とその物質の濃度の相関関係において定量的になされる。すなわち、ある一定範囲内においては、一定数のレセプターに対して、その物質を、漸増させて投与した際に、あるいは、一定の物質濃度に対して、レセプター数を、漸減させて結合させた際に、その物質の除去率は、直線関係で変化し、その物質のクリアランス速度を測定することによりレセプター数を推定することが可能であろう。

今回、GHSA の ASGP 受容体との radioreceptor assay により、in vitro における結合定量性を示した上で、in vivo における検討を行った。まず門脈内投与における ^{99m}Tc -GHSA 肝除去率の測定において、 ^{99m}Tc -GHSA は、門脈血 \rightarrow 肝 \rightarrow 肝静脈という閉鎖系内を移行することから、肝除去率はクリアランスと異なり、有効肝血流量の因子とは無関係である。この肝除去率と投与量間は、きわめて良好な直線関係を得ることができ、 ^{99m}Tc -GHSA の肝臓に対する定量的取り込みが確認された。

Vera らは ^{99m}Tc -GHSA カイネティックモデルの定量解析により、肝計測曲線と 1 回の採血データから、有効肝血流量と受容体量を同時に絶対値として算出するモデルを報告している¹⁷⁾ が、肝内血液容量や受容体の肝細胞内偏在量などについては、平均値あるいは仮定をもとにしている問題点があり、その信頼度は明らかでない。

今回、クリアランスの系に用いた投与量は比較的高濃度で、ガラクトサミン肝障害モデルにおいてクリアランスパラメータ K_d , K_u , T_{max} は受容体活性を反映したものとなった。一方、GHSA の濃度依存性を利用して、受容体活性に影響されない低濃度域、すなわち肝内流入 GHSA が 100% 近く摂取結合される投与量を選択すれば、クリアランスパラメータは主として有効肝血流量を反映したものとなるはずである。投与量の選択により受容体活性と有効肝血流量を区分することは特に新たな数式解析を必要とせず、すでに普及している two compartment analysis で算定可能であり実用的と考えられる。肝内に摂取された ^{99m}Tc -GHSA の排泄は、その急速な取り込みに比較すると緩徐であり、少なくともシンチグラム上では、約 30 分間は安定した肝イメージを示す。正常例の 2 時間後で小腸内活性を示したのに対し、胆管結紮例では主に尿路系へ排泄されており、この場合肝細胞から血中へ逆移行する経路が推察される。これらの相違を十分に説明するだけの肝細胞内における代謝・排泄などに関する詳細はまだ十分には解明されておらず今後の検討を要すると考えられる。 ^{99m}Tc -GHSA クリアランスならびに ASGP 受容体活性と、他の指標をもとにした肝障害重症度との相関などに関しては、第 3 報¹⁸⁾ に述べるが、今回検討した ^{99m}Tc -GHSA のクリアランスは、ASGP 受容体活性をきわめて定量的に反映しており、肝機能を評価できる理想的な肝スキャン剤となりうると考えられた。

V. 結 語

GHSA を radioreceptor assay ならびにクリアランスに応用して、以下の結論をえた。

1) ^{125}I -GHSA の ASGP 受容体ならびに肝細胞膜との radioreceptor assay における検討より、 ^{125}I -GHSA が、受容体に対し、定量的に結合することを証明した。

2) ^{99m}Tc -GHSA の、肝初回循環における除去率の測定により、 ^{99m}Tc -GHSA が、肝臓に、定量的に取り込まれることを証明した。

- 3) ^{125}I -GHSA と, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA は, 肝臓に, 等価に取り込まれると考えられた。
- 4) $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA の心, 肝クリアランス指標は, ASGP 受容体活性と一致して変動した。
- 以上により, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA は, 肝機能診断上すぐれたスキャン剤になるとと考えられた。

標識 GHSA を提供された日本メジフィジックス社に深謝致します。

文 献

- 1) Taplin GV, Meredith OM, Kade H: The radioactive (^{131}I -tagged) rose bengal uptake-excretion test liver function using external gamma-ray scintillation counting techniques. *J Lab Cli Med* **45**: 665-678, 1955
- 2) Klingensmith WC, Johnson ML, Kuhi CC, et al: Complementary role of Tc-99m-diethyl-IDA-and ultrasound in large and small duct biliary tract obstruction. *Radiology* **138**: 177-184, 1981
- 3) Kato-Azuma M: Tc-99m-(Sn)-N-Pyridoxylamines: A new series of hepatobiliary imaging agents. *J Nucl Med* **23**: 517-524, 1982
- 4) Ashwell G, Morell AG: The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. *Adv Enzymol* **41**: 99-128, 1974
- 5) Sawamura T, Nakada H, Hazama H, et al: Hyper-asialoglycoproteinemia in patients with chronic liver diseases and/or liver cell carcinoma. *Gastroenterology* **87**: 1217-1221, 1984
- 6) Sawamura T, Kawasato S, Tsuda M, et al: Clinical application of the measurement of serum asialoglycoproteins to estimate residual liver function in patients with chronic liver disease with or without hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Jpn* **20**: 203-208, 1985
- 7) Stowell CP, Lee YC: Neoglycoproteins: The preparation and application of synthetic glycoproteins.
- 8) Vera DR, Krohn KA, Stadalnik RC, et al: Tc-99m galactosyl-neoglycoalbumin: In vivo characterization of receptor-mediated binding to hepatocytes. *Radiology* **151**: 191-196, 1984
- 9) Vera DR, Krohn KA, Stadalnik RC, et al: Tc-99m galactosyl-neoglycoalbumin: In vitro characterization of receptor-mediated binding. *J Nucl Med* **25**: 779-787, 1984
- 10) 久保田佳嗣, 小島通真, 羽間 弘, 他: アシアロ糖タンパクーアシアロ糖タンパク受容体系を応用した新しい肝機能検査法の開発——第1報 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識ネオ糖タンパクによる肝イメージングの検討——. *核医学* **23**: 899-905, 1986
- 11) Millar WT, Smith JFB: Protein iodination using Iodogen. *Int J Appl Radiat Isot* **34**: 639-641, 1983
- 12) Greenwood FC, Huter WM, Glover JS: The preparation of ^{131}I -labelled human growth hormone of high specific radiology. *Biochem J* **89**: 114-123, 1963
- 13) Hudin RL, Pricer W, Ashwell G: The isolation and properties of a rabbit liver binding protein specific for asialoglycoproteins. *J Biol Chem* **249**: 5536-5543, 1974
- 14) Ehrenreich JH, Bergeron JHM, Siekevitz P, et al: Gorgi fractions prepared from rat liver homogenates: I. Isolation procedure and morphological characterization. *J Cell Biol* **59**: 45-72, 1973
- 15) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275, 1951
- 16) 上田英雄, 右田 徹, 亀田治男, 他: ラジオアイソトープによる肝機能検査法. *内科* **11**: 637-646, 1963
- 17) Vera DR, Krohn KA, Scheibe PO, et al: Identifiability analysis of an in vivo receptor-binding radiopharmacokinetic system. *IEEE Trans Biomed Eng* **BME-32**: 312-322, 1985
- 18) 羽間 弘, 河 相吉, 久保田佳嗣, 他: アシアロ糖タンパクーアシアロ糖タンパク受容体系を応用した新しい肝機能検査法の開発——第3報 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識ネオ糖タンパククリアランス曲線解析による肝機能検査法の検討——. *核医学* **23**: 917-926, 1986

Summary

A New Liver Function Test Using the Asialoglycoprotein-receptor System on the Liver Cell Membrane: II. Quantitative Evaluation of Labeled Neoglycoprotein Clearance

Soukichi KAWA*, Hiroshi HAZAMA**, Michimasa KOJIMA*, Yutaka NISHIYAMA*,
 Midori NAKAZAWA*, Takeo HASEGAWA*, Yoshitsugu KUBOTA**,
 Koumei WASHINO****, Yutaka TASHIRO***, Yoshiko SAMESHIMA**
 and Yoshimasa TANAKA*

*Department of Radiology, **The Third Department of Internal Medicine,

***The First Department of Physiology, Kansai Medical University

****Nihon Medi-Physics Co., Ltd.

Asialoglycoprotein (ASGP) binds to the receptors on the liver cell membrane, and is specifically taken up by the liver and metabolized. We produced labeled neoglycoprotein (GHSA) that is physiologically equivalent to ASGP, and quantitatively examined whether its uptake by the liver is dose-related using the following methods in order to evaluate its usefulness as a scanning radiopharmaceutical: 1) binding assay between GHSA and ASGP receptors, 2) measurement of the liver extraction ratio in the initial circulation following administration into the portal vein, and 3) measurement of clearance in normal rats and rats with galactosamine-induced acute liver disorder.

The binding assay showed a linear relationship between the concentration of ^{125}I -GHSA and the amount of ASGP receptors obtained from the rat liver. A membrane assay using ^{125}I -GHSA and the liver cell membrane revealed similar results.

The liver extraction ratio in the initial circulation following the administration into the portal vein of normal rabbits was highly dose-dependent ($r=-0.95$ in the range of 5–100 μg GHSA).

Serial imaging of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA during two-hour period after administration into the peripheral

blood showed specific accumulation in the liver beginning immediately after the intravenous injection and subsequent transport mainly via the biliary system into the small intestine in the normal rat and mainly into the urine in the bile duct ligated rat.

As a dynamic model of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA, its circulation through the heart and liver and inactivated release from the liver was used, and two-compartment analysis was made on measurement curves in the heart and liver to obtain clearance parameters. The concentration of administered $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA (50–100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ body weight) showed a positive linear relationship with clearance. Administration of 50 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ body weight of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GHSA revealed a significant correlation ($p<0.001$) between clearance and ASGP receptor activity in normal rats and rats with galactosamine-induced acute liver disorder.

These results show that labeled GHSA binds quantitatively to liver ASGP receptors and is useful as a scanning radiopharmaceutical in evaluating liver functions.

Key words: Liver scintigram, Two compartment model, Neoglycoprotein.