

氏 名 (生年月日) おもかわ 真里奈 (1995 年 6 月 14 日)
面川

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 博 薬 第 232 号

学位授与の日付 2024 年 3 月 16 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学 位 論 文 題 目 がん治療を指向した 2-fluorinated 2-deoxyglucoside 連結白金(II)錯体の創製ならびに抗腫瘍効果および体内分布特性に関する研究

論 文 審 査 委 員 (主査) 教 授 安 井 裕 之
(副査) 教 授 斎 藤 博 幸
(副査) 教 授 西 口 工 司

論 文 内 容 の 要 旨

序章

シスプラチンを代表とする既存の白金系薬剤はがん化学療法で広く利用されているが、腫瘍特異性に乏しく、重篤な副作用が臨床上の問題となっており、これらの問題を解決する新規白金系薬剤の創製が近年活発に行われている。そこで本研究では、腫瘍特異的な集積による副作用の軽減を目指した新規白金錯体の開発に取り組むこととした。

第 1 章では、白金系薬剤の非特異的な体内分布をより制御するため、がん細胞に過剰発現するグルコーストランスポーター (GLUT) に注目し、白金錯体の担体として単糖を利用する薬剤開発を計画した。そこで、がんの陽電子放出断層撮影 (positron emission tomography) 診断で広く利用されている $[^{18}\text{F}]2\text{-deoxy-2-fluoro-D-glucose}$ ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$) に着目した。 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ はがん細胞内に取り込まれた後、糖代謝を受けずに蓄積される動態特性を有している。そこで、がん細胞内に白金 (Pt) を滞留させることで治療効果の向上と副作用の低減を目指せると想定し、白金錯体とグルコースの 2 位にフッ素原子を有する 2-fluorinated 2-deoxyglucoside を結合させた新規糖連結白金(II)錯体 (FGC-Pt) を設計・合成し、in vitro と in vivo において細胞毒性、体内分布特性、および抗腫瘍効果の評価を実施した。

第 2 章では、ガンマ線イメージング技術を利用して、全身の臓器や組織への Pt の集積を経時的、定量的かつ非侵襲的に追跡することを目指して、放射性 ^{191}Pt 標識 FGC-Pt ($[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$) の開発を計画した。この技術と ^{191}Pt 標識体を利用して得られた画像データから、副作用が生じる可能性のある臓器の特定、本薬剤が適応する患者の選定、最適な投与量の推定が可能になると考えられる。そこで、本章では、放射性 ^{191}Pt の製造法および $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ の合成法の検討を先ず行った。次に、 $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ および FGC-Pt の体内分布データを定量的に比較

することで、 $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ がガンマ線イメージングプローブとして利用可能かを検証した。

第1章 新規糖連結白金(II)錯体 (FGC-Pt) の開発

がん細胞がグルコースを多く取り込むこと、および $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ の動態特性を利用するため、白金錯体と 2-fluorinated 2-deoxyglucoside を結合させた FGC-Pt を設計し、1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-mannopyranose を出発原料として全 8 工程で合成した (総収率 : 11%、純度 : 96%)。ヒト子宮頸がん由来の HeLa 細胞を用いて MTS アッセイ法により細胞毒性を評価したところ、FGC-Pt はシスプラチンと同様に濃度依存的な殺細胞活性を示したが、その活性はシスプラチンの約 1/30 であった (IC_{50} ; シスプラチン : $15.5 \pm 2.3 \mu\text{M}$ 、FGC-Pt : $447 \pm 99 \mu\text{M}$)。一方、GLUT1 の発現量が高い HeLa 細胞とそれよりも低いヒト非小細胞肺癌由来の A549 細胞を用いて比較すると、HeLa 細胞における FGC-Pt の IC_{50} 値は、A549 細胞における IC_{50} 値 ($705 \pm 141 \mu\text{M}$) よりも低く細胞毒性が強いことから、GLUT1 を介した細胞内への取り込みが殺細胞効果に影響を与えることが示唆された。次に、FGC-Pt のマウス血漿中での化学構造の安定性を HPLC-UV 法で定量したところ半減期は約 2 時間であり、血漿中におけるシスプラチンの半減期 0.9 時間 (Anita, A. et al. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1995**, 13, 639-644.) の約 2 倍であることから、静脈内投与後の血中から組織への移行過程ではシスプラチンより有用だと示された。A549 細胞皮下移植モデルマウス (BALB/c nu/nu mice) に FGC-Pt およびシスプラチンを尾静脈内投与し、体内分布を ICP-MS 法で分析した。FGC-Pt は、投与 24 時間から 48 時間にかけて Pt 量の減少率が腫瘍では 0.3% である一方で、主要臓器 (骨、筋肉、血液、肝臓、腎臓) では 3-32% であった。この結果から、FGC-Pt は腫瘍からの Pt の排出が他の臓器と比較して遅く、滞留することが示された。また、FGC-Pt とシスプラチンの投与 24 時間後の体内分布の比較から、FGC-Pt は相対的に腫瘍へ集積しやすいことが示された。さらに、FGC-Pt は、シスプラチンよりも腎臓への Pt 集積量が低く、シスプラチンでよく知られる腎臓への Pt 蓄積による腎毒性が回避できる可能性も示唆された。同様のモデルマウスを用いた抗腫瘍効果試験では、FGC-Pt はシスプラチンより個体への毒性は低く、生理食塩水投与群 (対照群) と比較してシスプラチンと同等の腫瘍増殖抑制効果を示し、FGC-Pt の抗腫瘍薬としての可能性が示された。

第2章 放射性 ^{191}Pt 標識新規糖連結白金(II)錯体 ($[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$) の開発

$[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ を 2 つの異なる方法により得た。A 法は、FGC-Pt に、加速器により得られた中性子を照射し、 $^{192}\text{Pt}(n,2n)^{191}\text{Pt}$ 核反応により $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ を生成する方法である。B 法は、同様の方法で K_2PtCl_4 から $[^{191}\text{Pt}]\text{K}_2\text{PtCl}_4$ を製造し、その後 $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ を合成する方法である。結果として、A 法と比べて B 法によって高純度の $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ が得られ (放射化学的純度 ; A 法 : 61.7%、B 法 : 93.8%)、モル活性はそれぞれ 115 MBq/mol、119 MBq/mol であった。従って、B 法は $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ だけでなく、他の新規 ^{191}Pt 標識白金錯体の合成にも応用できると考えられる。さらに、健常マウス (Slc/ddy mice) を用いた体内分布実験では、FGC-Pt および $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ をそれぞれ尾静脈内投与し、24 時間後に摘出した臓器毎の Pt 濃度 (%ID/g) を ICP-MS により、 ^{191}Pt 放射能濃度 (%ID/g) をガンマカウンターによりそれぞれ定量して評価した。FGC-Pt および $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ の体内分布の関連性を評価したところ、高い相関性 ($r=0.92$ 、

$p<0.0001$) が確認された。これらの結果から、 $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ は FGC-Pt の薬物動態特性を追跡できるガンマ線イメージングプローブとしての可能性を有することが示唆された。

総括

FGC-Pt の細胞内への取り込み機構の検証やトランスポーターの特定には至っていないが、 FGC-Pt は、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ のように腫瘍内で滞留性を示し、さらに腎臓からの Pt の排泄による腎毒性を回避できることが示唆される抗腫瘍薬として利用できる可能性が示された。さらに、 $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ はモル活性の向上など ^{191}Pt の製造法や ^{191}Pt 標識体の合成法に改善の余地は残るが、ガンマ線イメージングプローブとして利用できる可能性が見出された。よって、本研究で示した薬剤開発戦略や ^{191}Pt 標識体を利用したガンマ線イメージングの手法は、がん治療を指向した新規白金錯体の創薬研究に有益な知見を与えるものと考ええる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

《緒言》

シスプラチンを代表とする白金系薬剤はがん化学療法で広く利用されている。しかし、腫瘍特異性に乏しく重篤な副作用があるため、これらの問題を解決する新規白金系薬剤の創製研究は近年でも活発である。これらの背景から、本研究では、腫瘍特異的な集積による副作用の軽減を目指した新規白金錯体の開発について検討を行った。第 1 章では、白金系薬剤の体内分布をより制御するため、白金錯体の担体として単糖を利用する新規糖連結白金(II)錯体 (FGC-Pt) の開発を計画した。第 2 章では、ガンマ線イメージングを利用して、全身組織への Pt の集積を定量的、経時的かつ非侵襲的に追跡することを目指し、放射性 ^{191}Pt 標識による FGC-Pt ($[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$) の開発を計画した。

《審査結果》

第 1 章では、がん細胞に過剰発現するグルコーストランスポーター (GLUT) に注目し、がん滞留性を有する $[^{18}\text{F}]\text{2-deoxy-2-fluoro-D-glucose}$ ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$) の動態特性を利用するため、白金錯体と 2-fluorinated 2-deoxyglucoside を結合させた FGC-Pt を設計し、1,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-mannopyranose を出発原料とする全 8 工程の新規合成に成功した。HeLa 細胞を用いた細胞毒性では、 FGC-Pt の活性はシスプラチンの 1/30 であったが、GLUT1 発現量の高いがん細胞で強い殺細胞効果を示した。また、A549 細胞皮下移植モデルマウスに FGC-Pt を投与して体内分布及び抗腫瘍効果を解析し、腫瘍への集積と滞留に加え、シスプラチンと同等の腫瘍増殖抑制効果ならびに腎毒性回避及び個体への低い毒性を見出した。

第 2 章では、 K_2PtCl_4 に加速器により得られた中性子を照射して、 $^{192}\text{Pt}(n,2n)^{191}\text{Pt}$ 核反応により $[^{191}\text{Pt}]\text{K}_2\text{PtCl}_4$ を製造し、その後に FGC との錯体化により高純度の $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ を合成した。 FGC-Pt および $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ を健常マウスに投与し、体内分布を解析した結果、24 時間後の各

臓器の Pt 濃度 ^{191}Pt 放射能濃度には高い相関性が確認された。 $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ は FGC-Pt の薬物動態を追跡できるガンマ線イメージングプローブとしての可能性を有することが示唆された。

《結論》

本研究の新規性は、細胞内への取り込み機構の検証やトランスポーターの特定には至っていないが、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ と同様に腫瘍内で滞留性を示し、さらに腎臓からの Pt の排泄による腎毒性の回避を示唆される抗腫瘍薬として新規の FGC-Pt を開発したこと、加えて、モル活性の向上など ^{191}Pt の製造法や ^{191}Pt 標識体の合成法に改善の余地は残るが、放射性標識した $[^{191}\text{Pt}]\text{FGC-Pt}$ を開発し、ガンマ線イメージングプローブとして利用できる可能性を見出したことである。本研究で示した白金系抗がん剤の開発戦略や ^{191}Pt 標識体を利用したガンマ線イメージングの手法は、がん治療を指向した新規白金錯体の創薬研究に有益な知見を与えるものとする。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。