



Title	Basis research and development of DNA-targeted radio-platinum agents for Auger electron cancer therapy [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	尾幡, 穂乃香
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第15310号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89489
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Honoka_Obata_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏名 尾幡 穂乃香

審査担当者	主査	教授	小川 美香子
	副査	教授	松永 茂樹
	副査	准教授	吉野 達彦
	副査	講師	高倉 栄男

学位論文題名

Basis research and development of DNA-targeted radio-platinum agents
for Auger electron cancer therapy

(Auger 電子を用いたがん治療創成に向けた DNA を標的とする
放射性白金薬剤の基礎開発研究)

博士學位論文審査等の結果について（報告）

従来、 β 線放出核種を用いた核医学治療が行われているが、その飛程は最大 12 mm と長く、がん細胞以外の正常細胞への影響も懸念されている。一方、近年 40~100 μm 程度の短い飛程をもつ α 線を用いた核医学治療研究が盛んに行われている。短飛程放射線では、がん細胞をより選択的に照射できるため、治療効果を最大限高めつつ、副作用を減らすことが可能となる。Auger 電子は、 α 線よりもさらに短い 2~500 nm の飛程をもつ放射線であり、副作用のない核医学治療を実現できると、近年注目されている。しかし、その作用規模の小ささから、がん細胞に送達させるだけでは、治療効果が低いことが分かっており、有用な候補核種や化合物の見通しはまだ立っておらず、実用化には至っていない。このように、Auger 電子を用いた核医学治療は未開拓の分野で、今後の発展が待たれている状況にある。本論文は、このような現況にある Auger 電子治療研究において、DNA を Auger 電子の作用標的の定め、優れた DNA 親和性をもつ白金の Auger 電子放出 RI (^{191}Pt) を用いた放射性白金薬剤に関する基礎研究開発を行っている。本論文では、 ^{191}Pt について加速器を用いた製造法を確立すると共に、DNA を標的とする ^{191}Pt 標識化合物を開発し、 ^{191}Pt 標識化合物の DNA 標的性や ^{191}Pt から放出される Auger 電子の DNA 障害性を解明することを目的としている。

まず、本論文ではイリジウム (Ir) から、加速器を用いて ^{191}Pt を製造する方法を開発している。化学分離により ^{191}Pt を単離するためには、耐腐食性に優れた Ir を溶解する必要があるため、著者は、粉末 Ir を照射標的とし、照射前あるいは後に、融剤 Na_2O_2 を加えてアルカリ溶解を行うことで、照射した Ir の溶液化を達成した。また、固相抽出法や陰イオン交換クロマトグラフィー法を組み合わせた分離精製スキームを考案し、バルク量の Ir 溶液から、非放射性 Pt を添加せずに ^{191}Pt を PtCl_4^{2-} の化学形で回収することに成功し、標識合成・生物実験に利用可能な収率と化学形を担保した ^{191}Pt 製造が達成している。

次に、シスプラチンの ^{191}Pt 標識体を合成し、Auger 電子放出核種が DNA に結合した場合の障害性について評価を行っている。著者は、非放射性的シスプラチン由来の DNA 損傷を除去するために、非放射性 Pt を添加せずにシスプラチン標識体 (^{191}Pt]cisplatin) を合成する方法を考案し、標識体を得ることを達成した。そして、DNA 二重鎖切断 (DSBs) マーカーである γH2AX 、53BP1 の免疫染色や蛍光イメージングの結果、非放射性シスプラチンと比較して、 ^{191}Pt]cisplatin ではより多くの γH2AX や 53BP1 のフォーカスが観察され、DSBs が起きていることが示された。一方で、損傷の頻度は高くなく、細胞内動態を解析した結果、細胞取り込み量や DNA への送達量を上げる必要があることを明らかにした。

続いて ^{191}Pt]cisplatin の課題であった DNA 損傷誘導の効率を改善するために、細胞内取り込みや DNA 結合を促進させる標的化分子を ^{191}Pt に導入することを構想し、システイン (Cys) やカルボン酸系多座配位子 (DTPA) を介した ^{191}Pt 標識合成法を考案、DNA 結合分子 (Hoechst33258) の ^{191}Pt 標識体を開発している。インビトロでの検討の結果、 ^{191}Pt]Pt-DTPA-Hoechst、 ^{191}Pt]Pt-Cys-Hoechst は、他の Auger 電子放出候補核種である ^{111}In の標識体 (^{111}In]In-DTPA-Hoechst) と比較して、DNA 結合率が 1 桁高いことを見出した。

また、DNA 損傷修復タンパク質 53BP1 のイメージングの結果、特に DNA への結合量が多かった^{[191Pt]Pt-Cys-Hoechst} では、多くの DNA 損傷が引き起こされていることが示され、^{191Pt} が DNA 結合性・障害性の点で優れていることが本論文により明らかにされた。

さらに、より少ない放射能で効果的に細胞死を引き起こすための戦略として、著者はがん細胞内で増幅している細胞の生存に関与する遺伝子を標的とする分子の利用を検討している。このため、神経芽腫などで増幅される MYCN 遺伝子に結合する PI ポリアミド分子(PIP)を選択し、^{191Pt} 標識化合物(^{191Pt}-PIP-MYCN)を開発した。本標識化合物は所期のとおり、MYCN 遺伝子が増幅している細胞株へ障害性を示し、MYCN 遺伝子やその発現に影響を与えた。すなわち、DNA にランダムに結合させるのではなく、がん細胞生存に深く関わる遺伝子に Auger 電子を作用させることで、同じ ^{191Pt} 放射能で効率よく細胞障害を引き起こすことを見出した。

最後に、^{191Pt} 標識化合物をがん細胞 (PSMA)を標的とするリガンドの ^{191Pt} 標識化合物を開発し、評価を行っている。体内分布を調べた結果、リガンドの特異性は一定レベル保たれていた一方で、^{191Pt} のタンパク質結合率が高く、肝臓/脾臓/腎臓への集積量が腫瘍よりも数十倍高いことが明らかになった。インビボで機能させるための、化合物の血中安定性に関する知見を獲得している。

これを要するに、著者は、^{191Pt} 標識化合物の製造技術を構築し、DNA に送達させるための化合物設計や Auger 電子の DNA 作用に関する指針を得た。DNA 結合分子を用いて ^{191Pt} 標識化合物を DNA に送達させた際に、^{191Pt} が優れた DNA 結合性・障害性を発揮する新知見を得たものであり、DNA を標的とする Auger 電子治療の発展に貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。