

|      |  |    |        |
|------|--|----|--------|
| 京都大学 | 博士（薬学）                                     | 氏名 | 尾上 遼太郎 |
| 論文題目 | がんのオージェ治療および光線力学療法の併用を可能にする二機能性薬剤の開発に関する研究 |    |        |

（論文内容の要旨）

がんは高い死亡率を示す難治性の疾患である。現在臨床で適用されているがん治療法はいずれも効果が限定的であることから、その新たな手法の開発が求められている。核医学治療は放射性同位元素で標識した薬剤をがん細胞に集積させ、死滅させる治療法である。特に、オージェ電子を用いる核医学治療（オージェ治療）は、その短い飛程と優れた線エネルギー付与から、被ばくによる副作用を抑えつつ高い治療効果を得ることができる新たな手法として期待されている。オージェ治療用薬剤にはがん細胞核への選択的な集積が求められるが、現在までに臨床で利用可能な薬剤は存在しない。

一方、近年注目を集めるがん治療法として光線力学療法(PDT)がある。PDTでは、光増感剤(PS)を投与後、がん組織に励起光を照射することで光化学反応が生じる。その結果発生する一重項酸素が、がん細胞の変性・壊死を引き起こす。PDTはがん特異的かつ副作用の少ないがん治療を可能とする一方で、臨床ではPSの高い暗毒性が課題となっている。この課題を解決すべく、他のがん治療と組み合わせることでPSの投与量を減少させる検討が行われているが、上記オージェ治療との併用に関する報告はない。

本研究では、これら2つのがん治療へ応用可能な二機能性薬剤の開発を目的として、核への局在性を有する核染色剤のヘキストと、ヨウ素原子の導入によりPSとして利用でき、かつオージェ電子放出核種である<sup>125</sup>Iを簡便に導入可能な蛍光色素BODIPYを結合させたBODIPY-Hoechst (BH)および種々の誘導体を設計・合成し、その有用性評価を行った。

**第1章: オージェ治療を目的とした放射性ヨウ素標識BODIPY結合ヘキストの開発**

[<sup>125</sup>I]BHを合成し、オージェ治療用薬剤としての有用性評価を行った。コントロール化合物としてヘキストを含まない[<sup>125</sup>I]BDを合成した。核取り込み評価では、[<sup>125</sup>I]BHは[<sup>125</sup>I]BDと比較して有意に高い取り込み率を示し、ヘキストが核局在化タグとして機能することが示唆された。MTTアッセイおよびγ-H2AXアッセイでは、[<sup>125</sup>I]BHを添加した細胞において、放射線量の増加に伴い生存率が低下し、γ-H2AXの発現量が増加したことからDNA二重鎖の切断に起因する細胞毒性が認められた。以上の結果から、[<sup>125</sup>I]BHはオージェ治療用薬剤として機能する可能性が示された。

**第2章: オージェ治療および光線力学療法を可能にするBODIPY結合ヘキストの開発**

PDTへの応用に際して、重原子効果によりPDTの治療効果が増強すると予想されるヨウ素を2原子導入したBH-2を新たに設計・合成し、第1章で合成したBHとともにオージェ治療用薬剤および光増感剤としての有用性について検討した。核取り込み評価では、[<sup>125</sup>I]BH-2と[<sup>125</sup>I]BHの取り込み率は同等であった。MTTアッセイでは、[<sup>125</sup>I]BH-2または[<sup>125</sup>I]BHを添加した細胞において、いずれも放射線量依存的な細胞生存率の低下が観察されたが、化合物間での有意差は認められなかった。この結果から、[<sup>125</sup>I]BH-2はオージェ治療用薬剤として[<sup>125</sup>I]BHと同様の性質を示すことが明らかとなった。一方で、BH-2またはBHを添加し照射後のMTTアッセイにおいて、BH-2はBHと比較してより顕著な光毒性を示した。以上より、[<sup>125</sup>I]BH-2/BH-2はオージェ治療およびPDTのいずれにも応用可能であることが示唆された。

### 第3章: 近赤外光を利用した光線力学療法およびオーজে治療の併用を可能にするNIR-BODIPY結合ヘキストの開発

BHおよびBH-2の吸収波長は約520 nmであり、生体透過性が低い波長であることに課題があった。そこで生体透過性が高い近赤外光で励起可能な薬剤を開発すべく、BHおよびBH-2に*p*-メトキシスチリル基を導入して長波長化したNBH-1およびNBH-2を設計・合成した。NBH-1およびNBH-2の吸収波長は近赤外領域である約650 nmを示した。細胞および核取り込み評価いずれにおいても、 $[^{125}\text{I}]\text{NBH-1}$ は $[^{125}\text{I}]\text{NBH-2}$ と比較して有意に高い取り込み率を示した。MTTアッセイでは、 $[^{125}\text{I}]\text{NBH-1}$ を添加した細胞において、放射エネルギー依存的に生存率が低下した。また、NBH-1を添加し光照射した細胞において、濃度依存的な光毒性が観察された。さらに、 $[^{125}\text{I}]\text{NBH-1}$ およびNBH-1を添加してオーজে治療とPDTを併用した細胞の生存率は、それぞれ単独で添加した細胞の生存率と比較して有意に低下した。 $[^{125}\text{I}]\text{NBH-1}$ およびNBH-1を担癌マウスに投与した治療実験では、オーজে治療とPDTを併用したマウスにおいて、最も強力な腫瘍増殖抑制が観察された。以上の結果から、 $[^{125}\text{I}]\text{NBH-1}/\text{NBH-1}$ は近赤外光を利用したPDTおよびオーজে治療の併用を可能にする二機能性薬剤として有用であることが示された。

以上、本研究はがんのオーজে治療およびPDTの併用を可能にする二機能性薬剤の開発に成果を収めたものであり、新たながん治療の確立に有益な情報を提供するものと考えられる。

## (論文審査の結果の要旨)

現在臨床で適用されているがん治療法はいずれも効果が限定的であることから、その新たな手法の開発が求められている。核医学治療の中でもオージェ治療は、その短い飛程と優れた線エネルギー付与から、被ばくによる副作用を抑えつつ高い治療効果を得ることができる新たな手法として期待されている。オージェ治療用薬剤にはがん細胞核への選択的な集積が求められるが、現在までに臨床で利用可能な薬剤は存在しない。一方、近年注目を集めるがん治療法としてPDTがある。PDTはがん特異的かつ副作用の少ないがん治療を可能とする一方で、臨床では光増感剤の高い暗毒性が課題となっている。この課題を解決すべく、他のがん治療と組み合わせることで光増感剤の投与量を減少させる検討が行われているが、上記オージェ治療との併用に関する報告はない。本研究では、これら2つのがん治療へ応用可能な二機能性薬剤の開発を目的として、核への局在性を有する核染色剤のヘキストと、ヨウ素原子の導入によりPSとして利用でき、かつオージェ電子放出核種である $^{125}\text{I}$ を簡便に導入可能な蛍光色素BODIPYを結合させたBHおよび種々の誘導体を設計・合成し、その有用性評価を行った。第1章では、オージェ治療を目的とした放射性ヨウ素標識BODIPY結合ヘキストの開発を行った。 $^{125}\text{I}$ BHおよびコントロール化合物としてヘキストを含まない $^{125}\text{I}$ BDを合成し、オージェ治療用薬剤としての有用性評価を行った。核取り込み評価では、 $^{125}\text{I}$ BHは $^{125}\text{I}$ BDと比較して有意に高い取り込み率を示し、ヘキストが核局在化タグとして機能することが示唆された。MTTアッセイおよび $\gamma$ -H2AXアッセイでは、 $^{125}\text{I}$ BHを添加した細胞において、放射エネルギーの増加に伴い生存率が低下し、 $\gamma$ -H2AXの発現量が増加したことからDNA二重鎖の切断に起因する細胞毒性が認められた。次に第2章として、オージェ治療および光線力学療法を可能にするBODIPY結合ヘキストの開発を行った。PDTへの応用に際して、重原子効果によりPDTの治療効果が増強すると予想されるヨウ素を2原子導入したBH-2を新たに設計・合成し、第1章で合成したBHとともにオージェ治療用薬剤および光増感剤としての有用性について検討した。核取り込み評価では、 $^{125}\text{I}$ BH-2と $^{125}\text{I}$ BHの取り込み率は同等であった。MTTアッセイでは、 $^{125}\text{I}$ BH-2または $^{125}\text{I}$ BHを添加した細胞において、いずれも放射エネルギー依存的な細胞生存率の低下が観察されたが、化合物間での有意差は認められなかった。この結果から、 $^{125}\text{I}$ BH-2はオージェ治療用薬剤として $^{125}\text{I}$ BHと同様の性質を示すことが明らかとなった。さらに第3章では、近赤外光を利用した光線力学療法およびオージェ治療の併用を可能にするNIR-BODIPY結合ヘキストの開発を行った。生体透過性が高い近赤外光で励起可能な薬剤を開発すべく、BHおよびBH-2を長波長化したNBH-1およびNBH-2を設計・合成した。細胞および核取り込み評価いずれにおいても、 $^{125}\text{I}$ NBH-1は $^{125}\text{I}$ NBH-2と比較して有意に高い取り込み率を示した。MTTアッセイでは、 $^{125}\text{I}$ NBH-1を添加した細胞において、放射エネルギー依存的に生存率が低下した。また、NBH-1を添加し光照射した細胞において、濃度依存的な光毒性が観察された。さらに、 $^{125}\text{I}$ NBH-1およびNBH-1を添加してオージェ治療とPDTを併用した細胞の生存率は、それぞれ単独で添加した細胞の生存率と比較して有意に低下した。 $^{125}\text{I}$ NBH-1およびNBH-1を担癌マウスに投与した治療実験では、オージェ治療とPDTを併用したマウスにおいて、最も強力な腫瘍増殖抑制が観察された。以上、本研究はがんのオージェ治療およびPDTの併用を可能にする二機能性薬剤の開発に成果を収めたものであり、新たながん治療の確立に有益な情報を提供するものと考えられる。よって、本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和6年2月16日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、(令和8年3月25日までの間)当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。