

|             |                                                                                                                                                                                |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | チヨウ 張 シュウ 周 オン 恩                                                                                                                                                               |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (工 学)                                                                                                                                                                      |
| 学 位 記 番 号   | 工 博 第 2579 号                                                                                                                                                                   |
| 学位授与の日付     | 平 成 17 年 9 月 26 日                                                                                                                                                              |
| 学位授与の要件     | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                                        |
| 研究科・専攻      | 工 学 研 究 科 物 質 エ ネ ル ギ ー 化 学 専 攻                                                                                                                                                |
| 学 位 論 文 題 目 | Tumor-Targeting Antitumor Prodrugs and Noninvasive Molecular Imaging Probes : Designs, Syntheses and Properties<br>(腫瘍を標的とする抗腫瘍性プロドラッグおよび非侵襲性分子イメージング用プローブの分子設計, 合成, 特性に関する研究) |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 西 本 清 一 教 授 中 條 善 樹 教 授 木 村 俊 作                                                                                                                                   |

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、腫瘍組織における血管新生および低酸素生理環境の発現に着目し、これらの腫瘍特性を標的とする抗腫瘍性プロドラッグならびに非侵襲性分子イメージング用蛍光プローブの開発を目的として、分子設計、合成、活性と性能の評価に関する結果をまとめたものであり、序論、本論6章、および総結論から成っている。

序論は、腫瘍を標的とする抗腫瘍性プロドラッグおよび非侵襲性分子イメージング用プローブの研究展開に対する挑戦、戦略および先端技術開発の動向を概観した上で、本論文を構成する各章の研究課題を位置づけ、個々の研究の背景と目的を示している。

第1章では、腫瘍血管の新生に伴って血管内皮の表面に発現する典型的な腫瘍マーカーのアミノペプチダーゼ N/CD13 (APN/CD13) に対して認識機能を示す腫瘍ホーミング性環状ペプチド Cys-Asn-Gly-Arg-Cys (CNGRC) に着目し、リンカー部位を介して5-フルオロ-2'-デオキシウリジン (5-FdUrd) と結合することにより、腫瘍標的機能を有する2種類の抗腫瘍性プロドラッグ CNF1, 2 を合成した。CNF1, 2 は5-FdUrd と比べてより低い細胞毒性を示したが、APN/CD13 を発現する腫瘍細胞に対して顕著な選択的細胞毒性を示し、毒性の強さは細胞内のプロドラッグ濃度および加水分解生成物の5-FdUrd 濃度に対応することを明らかにした。

第2章では、光感性のニトロベンジル基を有するフルオロウラシル (5-FU) の新規プロドラッグ1-3を合成し、365nm の紫外線照射によってのみ5-FU をほぼ定量的に遊離することを明らかにするとともに、ナノ秒レーザー閃光分解法により、aci-ニトロ中間体を経て5-FU を遊離する光還元活性化の反応機構を解明した。また、腫瘍ホーミング性環状ペプチド CNGRC と結合した3は、APN/CD13 を標的として腫瘍組織に達した後、光還元反応により活性化され5-FU を遊離する抗腫瘍性プロドラッグへの応用が期待され、副作用を低減しつつ癌治療効果を高める可能性について論じた。

第3章では、カンプトセシン (CPT) の強力な抗腫瘍活性に注目し、20位のヒドロキシル基の置換基修飾によって一連の水溶性 CPT 誘導体 CPT3 および CPT3a-d を合成した。また、インドールキノンなどの酵素還元反応性ユニットを CPT3 に導入し、還元活性化プロドラッグ CPT4-6 を合成し、還元酵素の DT-ジアホラーゼ共存下で CPT を遊離することを確認するとともに、酵素還元活化の反応機構を明らかにした。これらのプロドラッグは、酸素共存下で CPT より低い細胞毒性を示す一方、低酸素環境下では顕著に毒性が増大することを明らかにし、腫瘍の低酸素生理環境を標的とする新規な抗腫瘍性プロドラッグとなり得ることを示した。

第4章では、カンプトセシン (CPT) とインドールキノン (IQ) またはマイトマイシン C (MMC) をリンカー分子で結合した CPT-IQ および CPT-MMC を合成した。CPT-IQ は紫外線照射下で2'-デオキシグアノシン (dG) を酸化すると同時にアルキル化する反応性を示すことを明らかにした。また、レーザー閃光分解法により、電子移動と逆電子移動の阻害を含む光増感酸化還元反応機構を明らかにし、低酸素腫瘍の光治療に対して有効な酸素非依存型の光増感剤となり得ることを示した。

第5章では、蛍光性分子のフルオレセインと環状ペプチドとの結合体(CNP1-3)を合成した。蛍光顕微鏡を用いた細胞イメージングによって、腫瘍ホーミング性環状ペプチド CNGRC と結合した CNP1 は、APN/CD13 を発現する HT-1080 細胞を選択的に蛍光標識し、分子イメージング用蛍光プローブとなり得ることを示すと同時に、その標的効率と蛍光性分子との間を隔てるリンカー構造の変化によって調整可能であることを明らかにした。

第6章では、カンプトセシンとインドールキノンの結合体(CPT-IQ)は、還元酵素のチトクローム P450 の作用によって低酸素環境下で選択的に抗腫瘍活性な CPT を遊離する一方、遊離した CPT が強い蛍光を発することを見だし、蛍光イメージング法により、CPT-IQ の活性化と抗腫瘍効果のリアルタイム・モニタリングが可能であることを示した。

総結論では、本論文で得られた成果を要約するとともに、今後の研究課題を提示している。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、腫瘍組織で発現する血管新生および低酸素生理環境に着目し、これらの腫瘍特性を標的とする治療用の抗腫瘍性プロドラッグならびに非侵襲性分子イメージング診断用の蛍光プローブについて、分子設計、合成、活性と性能の評価に関する結果をまとめたものであり、主な成果の概要は下記のとおりである。

(1) 腫瘍血管の新生に伴って血管内皮の表面に発現する典型的な腫瘍マーカーであるアミノペプチダーゼ N/CD13 (APN/CD13) を認識し得る腫瘍ホーミング性環状ペプチド CNGRC (Cys-Asn-Gly-Arg-Cys) を、リンカー部位の琥珀酸またはグルタル酸を介して、抗腫瘍剤の 5-フルオロ-2'-デオキシウリジン (5-FdUrd) と結合することにより、腫瘍標的機能を有する新規な抗腫瘍性プロドラッグを合成した。これらのプロドラッグは、腫瘍マーカー APN/CD13 を発現する HT-1080 細胞に対して顕著な選択的細胞毒性を示し、毒性の強さは細胞内のプロドラッグ濃度および加水分解生成物の 5-FdUrd 濃度に対応することを明らかにした。

(2) 抗腫瘍剤のフルオロウラシル (5-FU) にニトロベンジル基を導入した新規な光還元活性化プロドラッグを合成し、一部に環状ペプチド CNGRC による腫瘍標的機能を付与した。これらのプロドラッグは暗所では著しく安定であるが、365nm の紫外線照射により aci-ニトロ中間体を経て 5-FU がほぼ定量的に遊離することを生成物分析とナノ秒レーザー閃光分解法の併用により明らかにした。

(3) トポイソメラーゼ I の作用を阻害し、細胞のアポトーシスを誘導する強力な抗腫瘍剤のカンプトセシン (CPT) に、水溶性のリンカーを介して、酵素還元反応性を示すインドールキノン (IQ)、ニトロベンゼンまたはニトロフラン部位を導入することにより、腫瘍の低酸素生理環境を標的とする新規な抗腫瘍性プロドラッグを合成した。これらのプロドラッグは、低酸素腫瘍細胞内で酵素還元により CPT を遊離し、選択的毒性を示すことを明らかにした。また、IQ と結合した CPT に比べて遊離した CPT は10倍以上強い蛍光発光を示し、IQ-CPT プロドラッグは抗腫瘍効果をリアルタイムでモニター可能な診断機能を併せもつことを見いだした。

(4) 蛍光性分子のフルオレセインに腫瘍ホーミング性環状ペプチド CNGRC を結合した分子は、APN/CD13 を発現する HT-1080 細胞を選択的に蛍光標識し、分子イメージング用蛍光プローブとなり得ることを明らかにした。

以上のように、本論文は低酸素固形腫瘍を標的とする抗腫瘍性プロドラッグおよび非侵襲性分子イメージング用蛍光プローブの開発に対して有用な知見を得ており、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成17年8月2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。