

氏 名	お 小 幡 あつ し
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	薬 博 第 525 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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	薬 学 研 究 科 医 療 薬 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	腫瘍の内用放射線療法のための銅-64標識放射性医薬品の開発に関する基礎的研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 佐 治 英 郎	教 授 橋 田 充	教 授 市 川 厚
--------	----------------------	-----------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

腫瘍において、低酸素状態にある領域は、化学療法に対する抵抗性が強く、また外部から γ 線を照射する放射線照射療法に対しても感受性が低いため、これに対する有効な治療法の開発が望まれ、多くの検討がなされているが、最近、そのひとつとして、内用放射線療法が注目されている。内用放射線療法とは、細胞障害作用の高い β^- 線などの粒子線を放出する放射性同位元素で標識された放射性化合物を体内に投与して腫瘍に分布させ、その放出放射線により腫瘍細胞を破壊しようとする方法である。この方法では、粒子放射線は放射線生物学的影響が強く、また細胞障害作用がその短い飛程内に限られることから、放射線の照射効果および照射領域の選択性に優れ、腫瘍に対する高い治療効果が期待される。そこで、本研究では、 ^{64}Cu が内用放射線療法に適した放射線(β^- 線)を放出するとともに、低いエネルギーの加速陽子を用いて効率良く製造できるため、超小型の医療用サイクロトロンにより産生され得る汎用性の高い核種となる可能性が高いこと、また、最近チオセミカルバゾン配位子とする銅(II)錯体のひとつである diacetyl-bis(N^4 -methylthiosemicarbazone) copper(II) (Cu-ATSM) が腫瘍の低酸素領域に高く集積することが見出されたことに着目して、 ^{64}Cu -ATSM を合成し、腫瘍、特にその低酸素領域の内用放射線療法への応用の可能性に関する検討を行うことを計画した。

第一章 病院内設置の医療用超小型サイクロトロンを用いた ^{64}Cu の製造および ^{64}Cu -ATSM の合成

^{64}Cu の製造は、 $^{64}\text{Ni}(\text{p}, \text{n})^{64}\text{Cu}$ 反応を用いて行った。高純度 ^{64}Ni を金円盤上に電着させるターゲット作製法および生成した ^{64}Cu の自動回収装置の開発により、短時間の製造およびターゲット処理で臨床応用に十分な放射量の ^{64}Cu をグリシンとの錯体(^{64}Cu -グリシン)として得ることができた。また、得られた ^{64}Cu -グリシンを用いて、配位子交換反応により、短時間に、高い放射化学的収率および放射化学的純度で、 ^{64}Cu -ATSM を得ることに成功した。

第二章 ^{64}Cu -ATSM による腫瘍の内用放射線療法の可能性に関する検討

^{64}Cu -ATSM による腫瘍の内用放射線療法の可能性を検討するために、まず、培養腫瘍細胞を用いて、 ^{64}Cu -ATSM の細胞取込み率を検討した。その結果、低酸素状態で細胞内に高濃度に放射能が取り込まれることを認めた。また、腫瘍細胞への取り込み機序の解明を目的として腫瘍細胞内での代謝状態を検討した結果、Cu-ATSM は主にミクロソーム/サイトゾル画分で代謝されること、この代謝反応は NADH や NADPH の添加により活性化され、熱処理により低下することを認めた。さらに、ミクロソーム/サイトゾル画分に存在する主要な酵素の阻害剤を用いた検討により、NADH: cytochrome b5 reductase、および、NADPH: cytochrome P450 reductase の阻害剤によって Cu-ATSM の代謝反応が著しく阻害されることが明らかとなった。このミクロソーム電子伝達系酵素による還元的代謝は腫瘍に特徴的なものであること、また低酸素条件下では代謝が活性化されたことより、 ^{64}Cu -ATSM は腫瘍、特に低酸素領域において代謝が活性化され、遊離した ^{64}Cu が細胞内に集積していることが示唆された。さらに、 ^{64}Cu -ATSM を腫瘍細胞とインキュベーションし、 ^{64}Cu -ATSM が腫瘍細胞に与える影響を検討した結果、 ^{64}Cu -ATSM は用量依存的に腫瘍細胞のコロニー形成能を抑制するとともに、 ^{64}Cu -ATSM 処置後6時間で DNA への障害の有意な増加、24時間以降で細胞増殖の抑制、36時間以降でア

ポトースマーカー陽性細胞の有意な増加を認めた。これらの結果より、 ^{64}Cu -ATSM は低酸素状態にある腫瘍細胞に滞留し、そこで、 ^{64}Cu から放出される β^- 線によって DNA に致死的な障害を与え、増殖抑制およびアポトーシスを誘導して細胞死を引き起こすことが示唆された。

さらに、担ガン動物に ^{64}Cu -ATSM を投与し、その腫瘍への分布を組織化学的な検討とともに調べた結果、放射能は腫瘍の中心領域よりも増殖の盛んな腫瘍辺縁領域に高く集積することを見出した。増殖の盛んな領域は低酸素状態にあることが多いとの報告があることから、この結果は、本化合物が腫瘍、特にその低酸素領域の治療に有効である可能性を示した。さらに、 ^{64}Cu から放出される β^- 線の飛程から、腫瘍辺縁領域のみならず、近傍の腫瘍領域にも放射線細胞障害作用を及ぼすことが推定され、 ^{64}Cu -ATSM は有効な内用放射線治療薬となり得る可能性が示された。

以上、本研究は、放射線の持つ細胞障害作用を利用することにより、腫瘍、特に、その低酸素領域を中心とした治療に有効な内用放射線治療薬開発の可能性を明らかにしたものであり、腫瘍治療学分野において有用な知見を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

腫瘍において、低酸素状態にある領域は、化学療法に対する抵抗性が強く、また外部から γ 線を照射する放射線照射療法に対しても感受性が低いため、これに対する有効な治療法の開発が望まれており、最近、そのひとつとして、細胞障害作用の高い、 β^- 線などの粒子線を放出する放射性同位元素 (RI) で標識された放射性化合物を体内に投与して、それを腫瘍に分布させることにより、その放出放射線により腫瘍細胞を破壊しようとする、内用放射線療法が注目されている。このような背景のもと、本論文は、 ^{64}Cu が内用放射線療法に適した放射線 (β^- 線) を放出すること、および、低いエネルギーの加速陽子を用いて効率良く製造できるため汎用性の高い核種となり得ること、また、最近チオセミカルバゾン配位子とする銅(II)錯体のひとつである diacetyl-bis (N⁴-methylthiosemicarbazone) copper(II) (Cu -ATSM) が腫瘍の低酸素領域に高く集積することを見出されたことに着目して、 ^{64}Cu -ATSM を合成し、それによる腫瘍の内用放射線療法の可能性に関して検討したものである。

著者は、まず、病院内設置の医療用超小型サイクロトロンを用いた ^{64}Cu の製造について検討し、短時間の製造および回収を可能とするシステムの開発に成功した。さらに、この ^{64}Cu を用いて、配位子交換反応により、短時間に、高い放射化学的収率および放射化学的純度で、 ^{64}Cu -ATSM を得た。次いで、 ^{64}Cu -ATSM による腫瘍の内用放射線療法の可能性を検討するために、 ^{64}Cu -ATSM の培養腫瘍細胞への取込み率を検討し、低酸素状態で細胞内に高濃度に放射能が取り込まれることを認めた。また、腫瘍細胞内での代謝状態を検討した結果、 Cu -ATSM は主にミクロソーム/サイトゾル画分で代謝されること、この代謝反応は NADH や NADPH の添加により活性化され、熱処理により低下すること、ミクロソーム/サイトゾル画分に存在する、NADH:cytochrome b5 reductase、および、NADPH:cytochrome P450 reductase の阻害剤によって Cu -ATSM の代謝反応が著しく阻害されることを明らかとした。これらの結果から、 ^{64}Cu -ATSM は細胞内のミクロソーム電子伝達系酵素によって電子依存的に還元的代謝を受け、遊離した ^{64}Cu が腫瘍細胞内に集積していることが示唆された。さらに、 ^{64}Cu -ATSM を腫瘍細胞とインキュベーションし、 ^{64}Cu -ATSM が腫瘍細胞に与える影響を検討した結果、 ^{64}Cu -ATSM は用量依存的に腫瘍細胞のコロニー形成能を抑制するとともに、 ^{64}Cu -ATSM 処置後 6 時間で DNA への障害の有意な増加、24 時間以降で細胞増殖の抑制、36 時間以降でアポトーシスマーカー陽性細胞の有意な増加を認めた。これらの結果より、 ^{64}Cu -ATSM は低酸素状態にある腫瘍細胞に移行、滞留し、そこで、 ^{64}Cu から放出される β^- 線によって DNA に致死的な障害を与え、増殖抑制およびアポトーシスを誘導して細胞死を引き起こすことが示唆された。

さらに、担ガン動物に ^{64}Cu -ATSM を投与し、その腫瘍への分布を組織化学的な検討とともに調べた結果、放射能は腫瘍の中心領域よりも増殖の盛んな腫瘍辺縁領域に高く集積することを見出した。腫瘍辺縁領域は低酸素状態にあることが多いとの報告があることから、この結果は、本化合物が腫瘍、特にその低酸素領域の治療に有効である可能性を明らかにした。

以上、本論文は、腫瘍の低酸素領域を治療の対象とする内用放射線治療薬の開発に関して基礎的な成果を収めたものであり、腫瘍治療学分野に有用な知見を与えるものと評価される。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。

更に、平成15年2月27日論文内容とそれに関連した口答試問を行った結果合格と認めた。