

# 放射線活性化型プロドラッグの創出に向けた分子設計に関する研究

(受託者) 国立大学法人京都大学

(研究代表者) 田邊一仁 大学院工学研究科

(研究開発期間) 平成22年度～23年度

## 1. 研究開発の背景とねらい

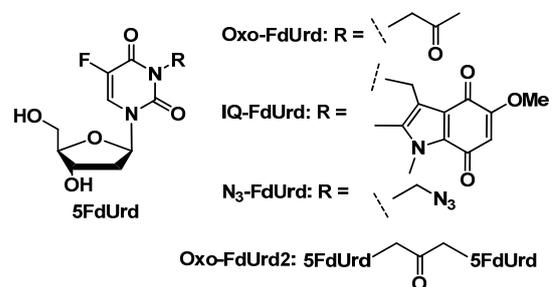
がんの治療では、より高い生存率が求められると共に、より高い機能温存と形態の保持が要求される。身体へのダメージが大きい手術と異なり、こうした障害が比較的少ない治療法の一つとして放射線療法が挙げられる。しかし、放射線療法は進行がんに対する治療成績があまり良くないことや、低酸素がん細胞等の固形がん組織の一部は、放射線感受性が低いといった欠点を持ち、最も望ましい形の治療法とは言い難い。このような背景の中で、近年新しいがんの治療法として注目されている方法が、抗がん剤と放射線療法を併用する化学放射線療法である。この手法は、手術に匹敵する治療成績が報告されていることから、がん治療におけるダメージの少ない新手法として期待されている。しかしながら、現時点では、使用する抗がん剤の副作用等の理由から、患者の容態によっては適用できないといった問題点が指摘されている。

こうした問題の解決を目的として、本研究では化学放射線療法に適応可能で、かつ副作用の軽い放射線活性化型プロドラッグの開発を進めた。具体的には、抗がん活性を示す薬剤に置換基を導入することで不活性化（プロドラッグ化）する一方で、X線照射により元の活性な構造に戻る機能性分子（プロドラッグ）を開発した。このプロドラッグを単に投与しただけでは何ら薬効を示さないが、X線を照射すると照射した部位でのみ活性化され、薬効を発現する。すなわち、患部にX線照射を行うと、放射線療法とともに化学療法が同時に始まる一方で、X線非照射部には、ほとんど影響を及ぼさない。従って、プロドラッグは副作用が低く、かつ疾患部（X線照射部）を選択的に攻撃する薬剤となりうる。

我々はこれまで、いくつかの抗がん剤のプロドラッグ化に取り組んできた。<sup>1</sup> この研究過程で X線照射によって生じる水和電子の還元反応を受け、結合開裂を生じる置換基（放射線分解型置換基：インドールキノン基・2-オキソアルキル基・ジスルフィド基・アジドメチル基など）を見出した。本研究では、これら置換基の機能を応用し、より活性が高く、効果的に薬効を発現する放射線活性化型プロドラッグシステムを構築した。

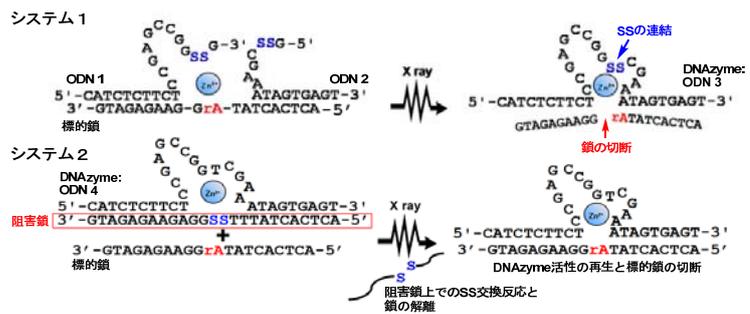
## 2. 研究開発成果

まず、これまでの研究で見出した放射線分解型置換基（2-オキソアルキル基、インドールキノン基、アジドメチル基）を既存抗がん剤 5-フルオロデオキシウリジン（5-FdUrd）に導入したプロドラッグ候補化合物（Oxo-FdUrd, IQ-FdUrd, N<sub>3</sub>-FdUrd）



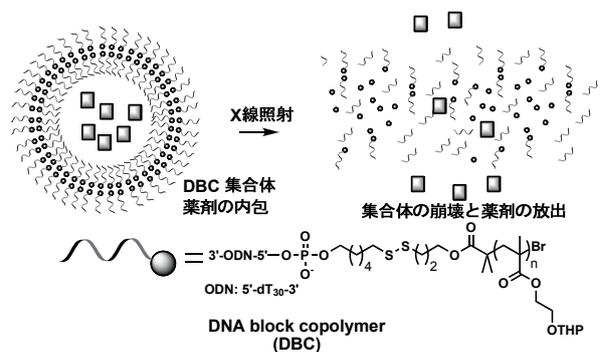
を化学合成した。加えて、一つの分子から、多数の抗がん剤を放出する多機能プロドラッグとして、2分子の5-FdUrdを担持したプロドラッグ抗がん剤（Oxo-FdUrd<sub>2</sub>）を合成した。合成したプロドラッグについてX線照射下における反応挙動をHPLCで追跡したところ、いずれも活性な抗がん剤5-FdUrdをリリースした。また、肺がん細胞A549を用いて毒性評価を進めた結果、X線照射下でのみ毒性を発現することを確認した。

次に、放射線分解型置換基を DNA や RNA に導入し、その機能を X 線により制御する分子システムを構築した。特に、mRNA 切断活性を持ち、遺伝子発現の抑制機能を示す DNAzyme を中心に機能化した。具体的には、放射線分解型置換基ジスルフィドを DNA



に導入した DNAzyme を開発した。まず、上図システム 1 に示すように DNAzyme 前駆体としてジスルフィド結合をもつ 2 分子の DNA (ODN 1, ODN 2) を化学的に合成し、これら二つの DNA オリゴマー上で進行する X 線還元反応を調べた。ODN1 と ODN2 を混合し、さらに標的となる DNA/RNA キメラ (標的鎖) を添加して X 線を 700 Gy 照射したところ、ジスルフィド交換反応が起こり、DNAzyme (ODN 3) が生成した結果、標的鎖が切断された。また、線量の低減を目的に、システム 2 に示すような阻害鎖の X 線分解反応を利用した DNAzyme 機能制御システムを構築した。ジスルフィド結合をもつ阻害鎖は DNAzyme と配列特異的に結合し、標的鎖切断活性を抑制する。一方、X 線照射を受けると阻害鎖上でジスルフィド交換反応が進行し、DNAzyme との結合が維持できなくなる。その結果、阻害鎖は DNAzyme から解離し、RNA 切断活性が回復する。実際に、阻害鎖を用いた切断実験を行ったところ、30 Gy という低線量で効率の良い切断が見られた。すなわち、低線量の X 線照射によって活性化される DNAzyme の構築に成功した。

さらに、効果的なドラッグデリバリーシステムを実現するツールとして X 線崩壊型ナノキャリアシステムを構築した。具体的には、放射線分解型置換基ジスルフィドをリンカーとし、疎水性ポリマーと親水性 DNA オリゴマーから成る両親媒性分子 (DBC) を設計した。DBC を合成・分離精製した後、薬剤内包特性、ミセル形成能および崩壊特性を調べた。蛍光色素を薬剤のモデルとして用いたところ、水溶液中で DBC の存在下でのみ色素の発光が確認できた。続いて、X 線を照射したところ、蛍光色素の発光は大きく抑えられた。これらのことから、DBC はミセル様集合体を水溶液中で形成し蛍光色素を内包する一方、X 線照射によって集合体は崩壊し蛍光色素を放出することがわかった。



### 3. 今後の展望

以上のように、低分子抗がん剤のプロドラッグについては、X 線照射によって活性化され、細胞毒性を示すことを明らかにした。一方、遺伝子を標的とする X 線活性化型 DNAzyme および X 線活性化型ドラッグキャリアは in vitro での評価によって、想定通りの機能をもつことを明らかにしている。細胞を用いた機能評価が今後の課題であり、低線量の X 線照射によって活性化されるシステムの構築を目的とした最適化研究を進めていきたいと考えている。

### 4. 参考文献

1 Tanabe, K. et al. *Org. Biomol. Chem.* 2007, 5, 3745-3757.