

**顕著な腫瘍増殖抑制効果を有する  
テトラゾラト架橋白金 (II) 二核錯体の作用機序に関する研究**

植村 雅子

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

## 博士論文紹介

# 顕著な腫瘍増殖抑制効果を有する テトラゾラト架橋白金 (II) 二核錯体の作用機序に関する研究

植村 雅子

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

キーワード： 白金二核錯体, 抗癌性腫瘍薬, DNA, 共有結合性相互作用, 非共有結合性相互作用, 細胞内蓄積

## 要旨

白金製がん剤は、がん化学療法において重要な役割を果たしている。その歴史はシスプラチンの発見に端を発している。現在までに、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチンの三つの白金製がん剤が世界で広く使用されている。次世代白金製がん剤には、既存の白金製がん剤を用いた治療に見られる臨床的問題、例えば、副作用や耐性がんの発現を克服することが求められる。テトラゾラト架橋白金 (II) 二核錯体 (以下、テトラゾラト架橋錯体) は、分子内に二つの白金原子を有し、分子全体として +2 の電荷を有する点で、既存の白金製がん剤とは構造が大きく異なる。テトラゾラト架橋錯体は、*in vivo* において顕著な腫瘍増殖抑制効果を示すことが報告されており、次世代白金製がん剤としての応用の期待が高まっている。白金製がん剤の標的である DNA との相互作用について、テトラゾラト架橋錯体は、シスプラチンとは差別化できる共有結合性 DNA 付加物を生じることに加え、既存の白金製がん剤では見られない非共有結合性相互作用を示すことが分かっている。非共有結合性相互作用は、DNA の二次、高次およびクロマチン構造に様々な変化を引き起こし、細胞増殖抑制活性に寄与していることが示唆されている。これらはテトラゾラト架橋錯体の構造的特徴が大きく関係していると推測される。特に、陽電荷は、非共有結合性相互作用に関与しており、さらに、細胞内への蓄積においても有効に働いている可能性がある。構造活性相関については、テトラゾール環 5 位に立体的に小さい置換基を有する化合物の方が、細胞増殖抑制活性が高いと考えられている。また、化合物の陽電荷 (+2) も活性を発揮する上で重要であると推測されている。

## はじめに

悪性新生物（がん）を治療する方法は、手術療法、放射線療法および化学療法の三つに大きく分けられる。がんに対する化学療法は、抗悪性腫瘍薬を投与することで、がん細胞の増殖を抑制し、がん細胞を死滅させる治療方法である。手術療法や放射線療法が局所的な治療であるのに対し、化学療法では全身的な治療効果を得ることができる。そのため、主として、手術療法や放射線療法が適用できない場合や、手術療法において術前術後の補助療法を行う場合に実施されている。化学療法において用いられている抗悪性腫瘍薬は、作用機序などにより分類される。その中の一つとして白金制がん剤が挙げられる。白金制がん剤およびその研究は、シスプラチンの発見によって、歴史の幕開けを迎えた。近年の研究において、Komedaらは、テトラゾラト架橋白金(II)二核錯体に顕著な腫瘍増殖抑制効果を見出した。本稿では、白金制がん剤について概説するとともに、テトラゾラト架橋白金(II)二核錯体に関するこれまでの知見について述べる。

### 1. 白金制がん剤

1960年代初頭、Rosenbergらが、電場が大腸菌に与える影響について研究していたところ、大腸菌の形状がフィラメント状に変化することを発見した。Rosenbergらは、この変化は電場の影響によるものではなく、白金電極の電解生成物に由来する白金錯体によるものであると推定した。培地に含まれる成分から想定される複数の白金錯体について試験を行った結果、最も活性が高かったのが、*cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]の構造を有する白金錯体、つまり「シスプラチン」であった<sup>1)</sup>(図1)。この歴史的発見によって、抗悪性腫瘍薬としての白金錯体の研究が始まった。シスプラチンは、1978年に米国、1984年に日本において、臨床使用が承認された。現在までに、シスプラチンに加えて、カルボプラチンおよびオキサリプラチンの三つの白金制がん剤が世界で広く臨床応用されている(図1)。さらに、日本においてネダプラチンおよびミリプラチン、中国においてロバプラチン、韓国においてヘプタプラチンの臨床使用が、それぞれ承認されている(図1)。

白金制がん剤の作用機序について、シスプラチンを例にとり説明する(図2)。白金制がん剤の標的はDNAであると考えられている。従って、白金制がん剤が薬理作用を示すためには、細胞内に取り込まれる必要がある。シスプラチンは、循環血液中から細胞内に取り込

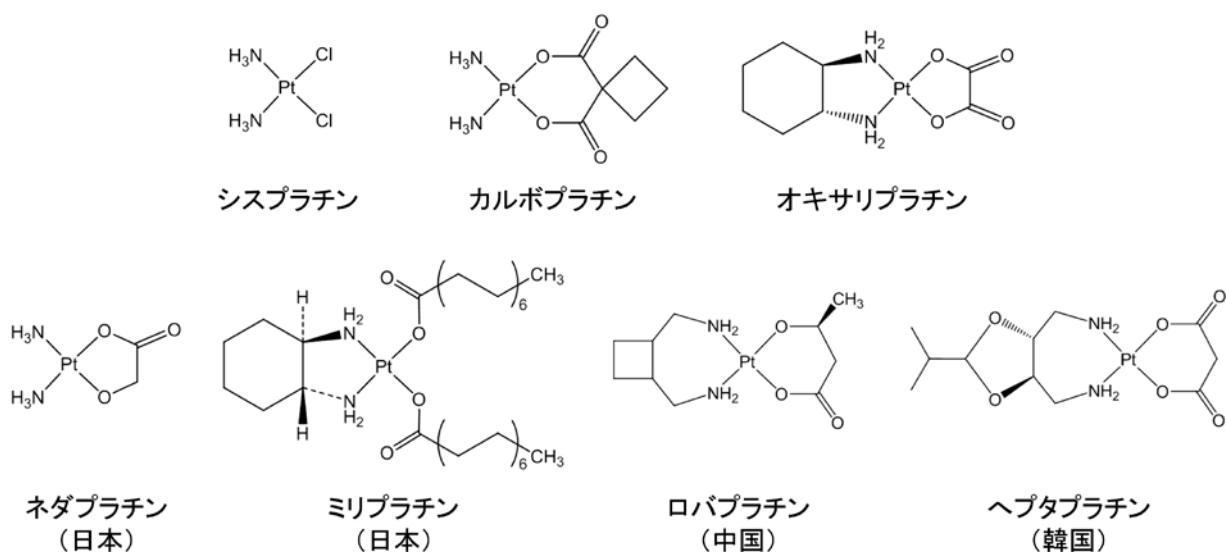


図1 臨床応用されている白金制がん剤

まれると、クロライド配位子が水分子によって置換される。これは、細胞内の  $\text{Cl}^-$  の濃度 (4 mM) が、血液中の濃度 (100 mM) に比べて著しく低いためである。この置換反応によって生じた分子種 ( $\text{cis}-(\text{NH}_3)_2\text{PtCl}(\text{H}_2\text{O})^+$ ,  $\text{cis}-(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2^{2+}$ ) は、非常に反応性が高く、DNA 鎖中の核酸塩基と共有結合を形成する。その結果、様々な共有結合性 DNA 付加物が形成される。白金原子は、核酸塩基中の求核性に富んだ部位の中でも、グアニン塩基の 7 位の窒素原子と優先的に共有結合を形成することが分かっており<sup>2,3)</sup>、隣接したプリン塩基同士の架橋である 1, 2- 鎖内架橋 (1, 2-d(GpG) あるいは 1, 2-d(ApG) 架橋) が優位に形成される (80-85%)<sup>4-7)</sup>。また、割合は少ないが、鎖間架橋も形成される (~1.5%)<sup>4,8)</sup>。共有結合性 DNA 付加物の形成によって、転写因子阻害やポリメラーゼ阻害、クロマチン構造の破壊が引き起こされ、細胞はアポトーシスへと導かれる。

シスプラチンは、多種多様ながんに対して効果・効能

が認められている。その適応は、頭頸部癌、肺癌、胃癌、食道癌、大腸癌、膀胱腫瘍、腎盂・尿管腫瘍、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、睾丸腫瘍、神経芽細胞腫、骨肉腫、胚細胞腫瘍 (精巣腫瘍、卵巣腫瘍、性腺外腫瘍) など、およそ全身のがんに及んでいる。シスプラチンが化学療法において主力となる薬剤として用いられている一方で、シスプラチンの使用が制限される場合がある。一つ目は、副作用の発現が認められる場合である。副作用は、シスプラチンが正常組織の細胞に対しても増殖抑制作用を示すことによって引き起こされる。代表的な副作用として、吐き気および嘔吐、神経障害や聴覚神経障害、腎障害などが挙げられる。二つ目は、がん細胞がシスプラチンに対して耐性を獲得した場合である。シスプラチン耐性がんは、他の白金制がん剤に対しても交叉耐性を示すことがあり<sup>9)</sup>、その場合には、白金制がん剤を使用することができなくなる。シスプラチンに対する耐性獲得機構として、白金制がん剤の細胞内取り込み量の減少、

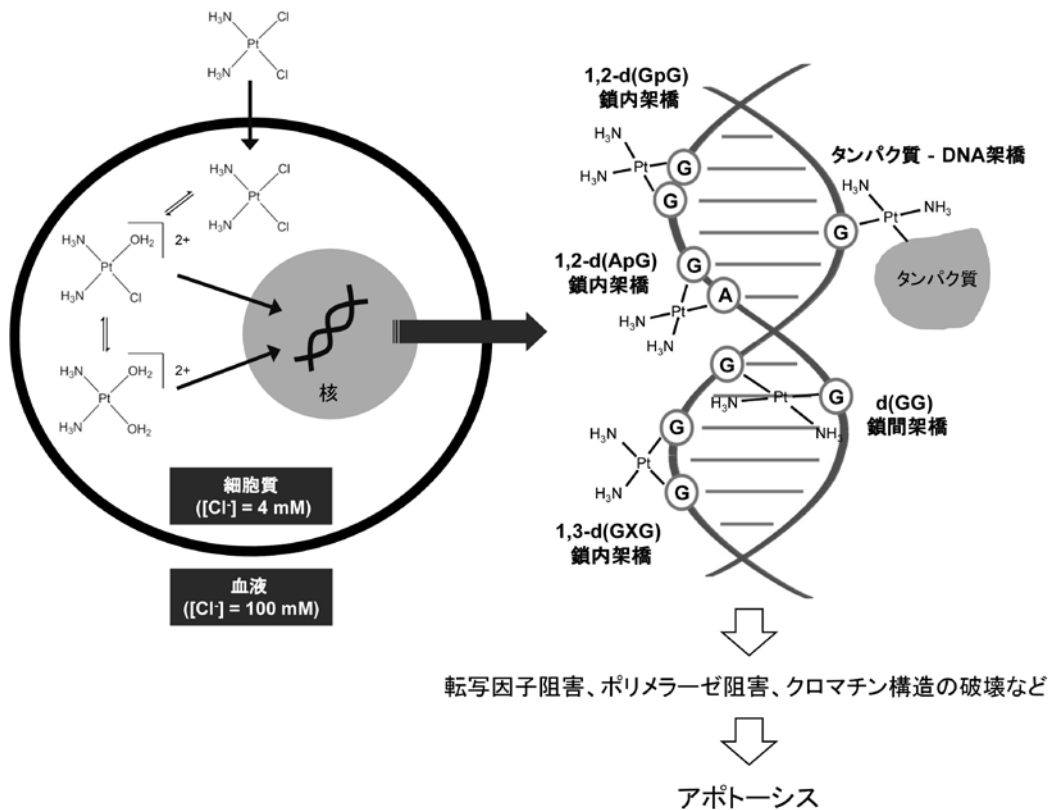


図2 シスプラチンの作用機序

細胞外排出量の増加, シスプラチンの解毒機構の亢進, DNA 修復機構の亢進などが考えられている<sup>10)</sup>。

新たな白金制がん剤には, 上述した問題を克服することに加えて, 化学療法が奏功しないがんを含む新たな適応の拡大が期待されている。シスプラチン以降に開発された白金制がん剤を例にとると, 第二世代に分類されるカルボプラチンは腎障害の軽減を達成している。これは, 腎臓におけるシスプラチンの取り込みに関与している有機カチオントランスポーター (organic cation transporter : OCT) の一つである OCT2 の基質とならない構造を有していることによる<sup>11)</sup>。また, 第三世代に分類されるオキサリプラチンは, 治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌や結腸癌の術後補助化学療法において用いられており, シスプラチンと比較して新たな適応を獲得している。

## 2. テトラゾラト架橋白金 (II) 二核錯体

アゾラト架橋白金 (II) 二核錯体 [ $\{cis\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\}_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-azolato})\}^{n+}$  (アゾラト架橋錯体, 図 3) は, 白金複核錯体であり, 分子全体として陽電荷を有している。従って, 無電荷白金単核錯体である既存の白金制がん剤とは大きく構造が異なる。アゾラト架橋錯体には, ピラゾラト架橋

白金 (II) 二核錯体 [ $\{cis\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\}_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-pyrazolato-}N1,N2)\}^{2+}$  (AMPZ), トリアゾラト架橋白金 (II) 二核錯体 [ $\{cis\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\}_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-1,2,3-triazolato-}N1,N2)\}^{2+}$  (AMTA) およびテトラゾラト架橋白金 (II) 二核錯体 [ $\{cis\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\}_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-5-R-tetrazolato-}N2,N3)\}^{n+}$  (テトラゾラト架橋錯体) がある。AMPZ, AMTA およびテトラゾラト架橋錯体は, それぞれ白金の架橋配位子が異なり, 前者二つの化合物は, テトラゾラト架橋錯体に先行して分子設計された。これらの化合物の開発には,  $cis\text{-[Pt}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-OH})]_2^{2+}$  (dihydroxo-bridged dimer : DHBD, 図 3) の核酸塩基との特異な結合様式が関わっている。

DHBD は, 生理的 pH において, シスプラチンのクロライド配位子が水分子による置換を受けた場合に生成し<sup>12,13)</sup>, アゾラト架橋錯体の合成過程においても得られる白金 (II) 二核錯体である<sup>14)</sup>。DHBD が核酸塩基と反応すると, 最終的に単核錯体として核酸塩基付加物を与えるが, その中間生成物として, ヒドロキソ架橋を一つ保持した構造をとる。つまり, DHBD は, 白金単核錯体とは異なる結合様式で DNA 付加物を形成する。Chikuma らは, この結合様式に着目し, 置換活性なヒドロキソ架橋と置換不活性な架橋配位子を有する白金 (II) 二核錯体の分子設計を行った結果, AMPZ が高い *in vitro* がん細胞細胞増

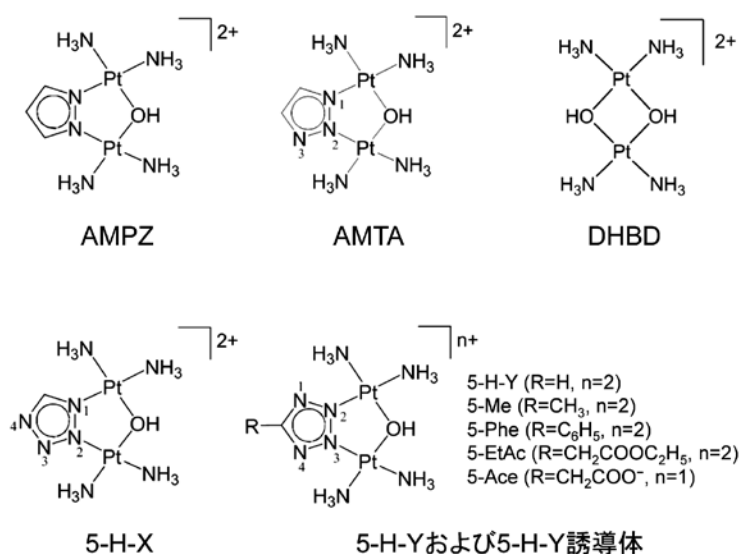


図 3 アゾラト架橋錯体および DHBD

殖抑制活性を示すことが明らかになった<sup>15)</sup>。Komedaらは、*in vivo* で毒性の低いアゾラト架橋錯体を得るために、様々な誘導体の合成を行い、構造の最適化を進めてきた。その結果、5-H-Y に代表されるいくつかのテトラゾラト架橋錯体が、PANC-1 ヒト膵臓がん細胞をマウスへ異種移植したモデルにおいて、低毒性でありながら顕著な腫瘍増殖抑制効果を発揮することを確認した<sup>16,17)</sup> (図4)。膵臓がんは、化学療法が比較的奏功しにくいがんであり、治療薬あるいは方法の開発が望まれているため、この結果は非常に興味深い。

この報告において、マウスの下肢へ移植した膵がんの腫瘍体積について、移植から42日後の体積を移植初日の体積と比較すると、コントロールで366%、膵がんに対する第一選択薬であるゲムシタビンで169%であるのに対し、5-H-Yでは3.5%であることが分かっている<sup>16)</sup> (図4左上)。つまり、5-H-Yはコントロールと比較して99%の腫瘍体積増殖抑制を示す。この時、5-H-Yを投与した6匹のマウスのうち、2匹において移植した腫瘍が消失しており、全てのマウスにおいて慢性毒性の指標となる体重減少は観察されなかった (図4右上)。5-H-Yのテトラゾール環の5位に様々な置換基を導入した5-H-Y誘導体 (図3) を用いて行った同様の実験において、5-EtAc (R = CH<sub>2</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, n = 2) も高い腫瘍増殖抑制効果を発揮することがKomedaらによって報告されている<sup>17)</sup>。5-EtAcでは、コントロールと比較して、80%の腫瘍体積増殖抑制を示す。細胞増殖抑制活性については、5-H-Y

および5-H-Y誘導体のほとんどは、PC-9あるいはPC-14ヒト非小細胞肺癌細胞やL1210マウス白血病細胞を用いた試験において、シスプラチンへの交叉耐性を克服することが確認されている<sup>18,19)</sup>。さらに、39種類のヒト由来がん細胞パネルを用いた実験では、テトラゾラト架橋錯体を含むアゾラト架橋錯体が効果を示すがんの種類が、シスプラチンに代表される既存の白金制がん剤とは異なることから、既存の白金制がん剤とは異なるメカニズムによって、細胞増殖抑制活性を発揮している可能性が高いことが分かっている<sup>17)</sup>。これらの実験結果から、テトラゾラト架橋錯体は、次世代白金制がん剤の創製に非常に適した基本骨格を有していると言える。

テトラゾラト架橋錯体の作用機序の一端を解明するために、DNAとの相互作用や細胞内蓄積量に関する様々な実験が行われてきた。現在までに得られている知見を以下に述べる。

## 2-1. 共有結合性相互作用

核酸塩基、ヌクレオチドおよび二重らせんDNAとの反応について、共有結合性DNA付加物の生成速度あるいは生成量の比較が行われている。

テトラゾラト架橋錯体と二当量の核酸塩基誘導体9-ethylguanine (9EtG)との反応における反応速度論的解析の結果、二次反応速度定数は5-H-X ≈ 5-H-Y ≈ 5-Phe > 5-Me > 5-EtAc > 5-Aceの順に小さくなること

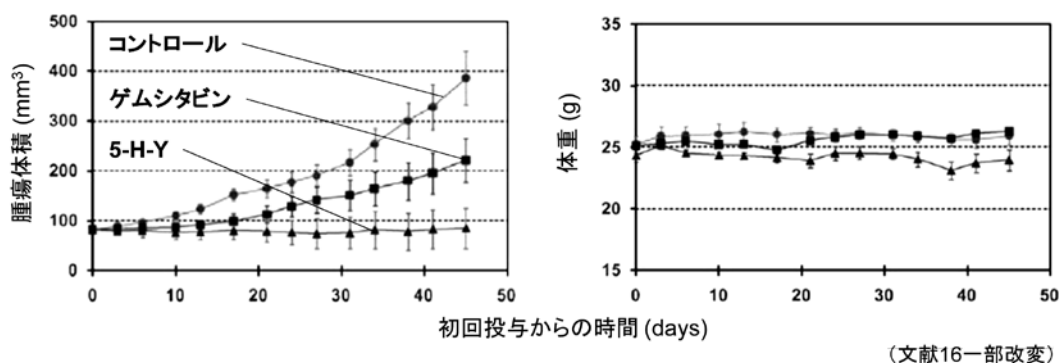


図4 5-H-Yの*in vivo* 抗腫瘍効果

(文献16一部改変)

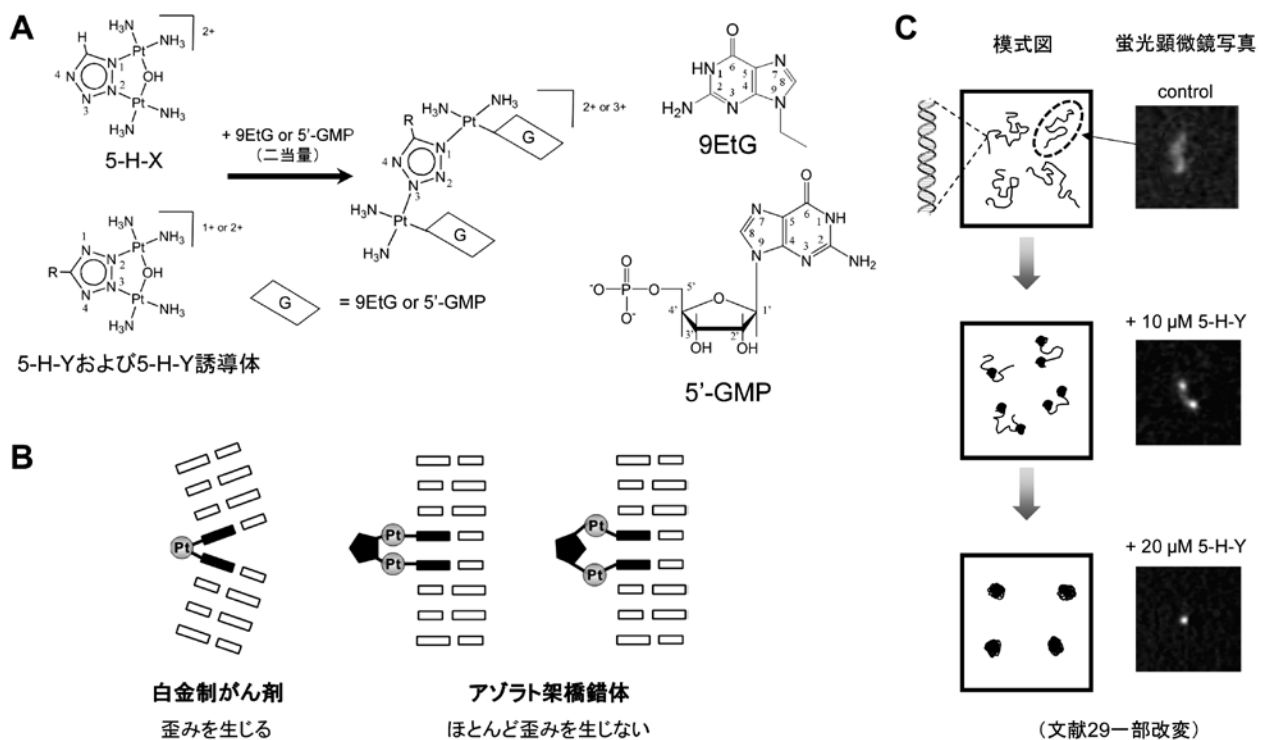


図5 テトラゾラト架橋錯体とDNAとの相互作用

- A 核酸塩基あるいはヌクレオチドとの共有結合性相互作用  
B 二重らせんDNAの共有結合性付加物  
C 非共有結合性相互作用によるDNA凝縮

が明らかにされている<sup>18, 19)</sup>。テトラゾラト架橋錯体の半減期 ( $t_{1/2}$ ) の平均値は  $108 \pm 26$  h であり、シスプラチン ( $t_{1/2} \sim 2$  h)<sup>20)</sup> と比較して、反応速度は非常に小さい。AMPZ ( $t_{1/2} = 221$  h) および AMTA ( $t_{1/2} = 137$  h) の半減期<sup>21)</sup> と比較すると、TZ 架橋錯体 > AMTA > AMPZ の順に、つまり、架橋配位子のアゾール環の窒素原子の数が減少するにつれて反応速度が低下する。二当量のヌクレオチド guanosine 5'-monophosphate (5'-GMP) との反応においても、同様の傾向が得られている<sup>18, 22)</sup> (一部未発表)。

二重らせんDNA (仔ウシ胸腺DNA) との反応について、共有結合性DNA付加物の定量を経時的に行った結果、シスプラチンと比較して、テトラゾラト架橋錯体の共有結合性DNA付加物の形成速度は遅いことが明らかにされている<sup>23)</sup> (一部未発表)。シスプラチンは、二重らせんDNAとの共有結合性相互作用においてDNA鎖間架橋を形成することを上述したが、アゾラト架橋錯体のDNA鎖間架橋の形成比(鎖間架橋の形成量/DNA付加物形

成量)は、シスプラチンと比較して少ないことが報告されている<sup>23, 24)</sup>。また、DNAとの共有結合性付加物に関するX線結晶構造解析<sup>15)</sup>やNMR<sup>25)</sup>の結果から、AMPZはシスプラチンとは異なり、DNA鎖の局所構造にほとんど歪みを生じないことが分かっている(図5-B)。AMPZの歪みの少ない構造は、DNA修復を受けにくいという利点を生み出しており<sup>24)</sup>、テトラゾラト架橋錯体およびAMTAについても同様の効果が得られると推測される。

テトラゾラト架橋錯体と核酸塩基あるいはヌクレオチドとの反応において、白金原子が分子内転移することが示されている<sup>18, 19)</sup> (一部未発表)。そのため、テトラゾラト架橋錯体と二当量の9EtGあるいは5'-GMPとの反応は、テトラゾール環の1および3位の窒素原子に白金原子が結合している最終生成物を与える(図5-A)。この転移反応は、AMPZにおいては確認されないが、窒素原子を3つ有するAMTAにおいても確認されている<sup>21, 22)</sup>。この分子内転移反応によって、テトラゾラト架橋錯体および

AMTA を構成する二つの白金原子は、互いにより離れた位置に配置されることから、多様な共有結合性 DNA 付加物の形成が可能になると考えられる。一方で、テトラゾラト架橋錯体および AMTA における分子内転移反応が起こったとしても、1, 2-鎖内架橋に関しては、AMPZ と同じように、DNA 鎖にほとんど歪みを与えないことが、分子モデリングを用いた研究によって裏付けられている<sup>26)</sup>。

## 2-2. 非共有結合性相互作用

DNA との非共有結合性相互作用は、既存の白金制がん剤においては見られず、陽電荷を有するテトラゾラト架橋錯体に特徴的な相互作用である。テトラゾラト架橋錯体は、非共有結合性相互作用によって DNA の二次構造および高次構造の変化を引き起こすと考えられている。

二次構造変化については、円二色性分光法を用いた仔ウシ胸腺 DNA の観察によって、一連のアゾラト架橋錯体が、DNA の二次構造を B 型から C 型へ変化させることが分かっている<sup>27, 28)</sup>。この構造変化は各錯体の添加直後に観察され、温度の影響を受けないことから、非共有結合性相互作用によって引き起こされると推測されている。

高次構造変化については、蛍光顕微鏡を用いた DNA の観察によって、一分子の T4 phage DNA 分子（鎖長 166 kbp）にテトラゾラト架橋錯体を作用させると、細長いコイル状態からコンパクトな小球状態に素早く変化（凝縮）することを Yoshikawa らが明らかにしている<sup>28, 29)</sup>（図 5-C）。電氣的に中性分子であるシスプラチンが、同様の DNA 凝縮を殆ど引き起こさないという事実からも、これらの構造変化は非共有結合性相互作用によるものであると考えられている。

テトラゾラト架橋錯体の中で唯一、+1 の電荷を有する 5-Ace は、二次構造変化をほとんど引き起こさないにも関わらず、非常に高効率に高次構造変化を引き起こす<sup>28)</sup>。このことから、非共有結合性相互作用には、陽電荷に起因する静電的相互作用に加えて、マイナーグループ結合等の比較的強い相互作用が関与していると推測されている（一部未発表）。

ごく最近、Maeshima らによって、5-H-Y は、クロマチ

ンの構造にも変化を引き起こすことが報告された<sup>23)</sup>。モデルクロマチンあるいは透過処理したヒト細胞核を用いた実験において、5-H-Y の添加に伴い、それぞれ、クロマチンの沈降速度が増加すること、あるいは、核の体積が減少することが確認されている。つまり、5-H-Y はクロマチン構造の凝縮（クロマチン凝縮）を引き起こすと推定される。クロマチン凝縮は、Hela 細胞の核内のクロマチンを可視化した *in vivo* における実験系においても観察されている。一方で、シスプラチンではこのような構造変化は観察されておらず、上述した T4 phage DNA 凝縮の場合と同様に、テトラゾラト架橋錯体の非共有結合性相互作用が関与していることが考えられる。また、クロマチン凝縮は、5-H-Y の非常に強固な DNA への結合によって引き起こされており、単なる静電的相互作用によるものではないことが示唆されている。

## 2-3. 細胞内蓄積量

L1210 マウス白血病細胞を用いた実験において、テトラゾラト架橋錯体はシスプラチンよりも多く細胞内に蓄積されていることが分かっている<sup>19)</sup>（図 6）。さらに、シスプラチン感受性細胞とシスプラチン耐性細胞における実験結果から、テトラゾラト架橋錯体は、シスプラチン耐性細胞において、より高効率に蓄積されていることが明らかにされている<sup>19)</sup>。5-H-Y を 1  $\mu$ M の濃度で作用させた場合の細胞内蓄積量は、シスプラチンを 10 倍の濃度（10  $\mu$ M）で作用させた場合の蓄積量をはるかに上回る。L1210 細胞は、白金錯体の細胞増殖抑制活性を調べるのに多く用いられている。上述した通り、L1210 シスプラチン感受性細胞および耐性細胞を用いて、テトラゾラト架橋錯体の細胞増殖抑制活性を明らかにしたところ、テトラゾラト架橋錯体はシスプラチン耐性細胞において、より高い活性を示す傾向が認められた。従って、シスプラチン耐性細胞において高効率に蓄積されることが、シスプラチンに対する耐性の克服に寄与している可能性が高いと考えられる。

いくつかの 5-H-Y 誘導体の「構造—細胞内蓄積量—細胞増殖抑制活性」の関係を調べると、テトラゾール環



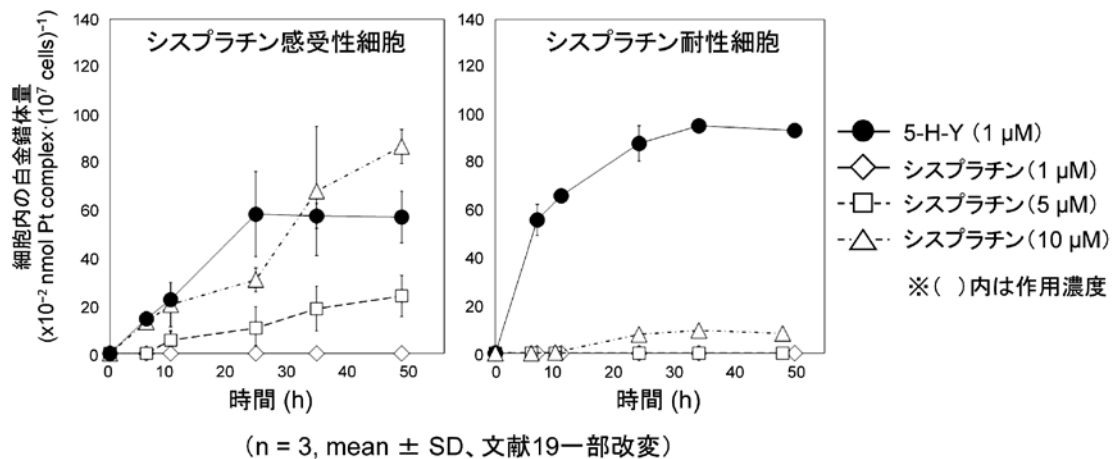


図6 L1210 マウス白血病細胞における5-H-Y およびシスプラチンの細胞内蓄積量の経時変化

表1 テトラゾラト架橋錯体のDNAとの相互作用様式および細胞内蓄積量に関するシスプラチンとの比較および特徴

DNAとの相互作用様式	共有結合性相互作用	DNA付加物の形成量	・シスプラチンより少ない
		鎖間架橋の形成比 (鎖間架橋の形成量/ DNA付加物形成量)	・シスプラチンより小さい
		DNA付加物の歪み	・シスプラチンより小さい (ほとんど生じない)
	非共有結合性相互作用	・シスプラチンでは観察されない (DNAの二次、高次およびクロマチン構造を大きく変化させる)	
細胞内蓄積量		・シスプラチンよりはるかに多い ・シスプラチン耐性細胞においても高効率に取り込まれる	

5位の置換基が立体的に小さい方が、細胞内により高効率に蓄積されるとともに、高い細胞増殖抑制活性を示す傾向にあることが分かった<sup>19)</sup>(一部未発表)。また、化合物の陽電荷(+2)も、細胞増殖抑制活性を発揮する上で重要であると考えられている。例えば、電荷が+1である5-Aceは細胞内にほとんど蓄積されず、他のテトラゾラト架橋錯体と比較して、著しく低い細胞増殖抑制活性を示す。

テトラゾラト架橋錯体のDNAとの相互作用や細胞内蓄積量について、シスプラチンと比較した結果を表1に

まとめる。

テトラゾラト架橋錯体のシスプラチンと異なる特徴は、シスプラチンに対する耐性克服や、シスプラチンが奏功しないがんに対して効果を発揮する白金製がん剤の創製にとって、有用であることが期待される。一方で、副作用を軽減するためには、高い腫瘍選択性を有することが望ましい。現在、がん細胞に選択的に作用する誘導体の合成が行われている。

「共有結合性および非共有結合性DNA付加物のうちどちらのDNA付加物の形成が腫瘍増殖抑制効果に寄与

しているのか」, 「どのような経路で細胞内に取り込まれるのか」など, テトラゾラト架橋錯体の作用機序については, まだ明らかにされていない点も多い。よって, 今後, テトラゾラト架橋錯体の作用機序に関する新たな知見が得られ, 開発研究に貢献することが見込まれる。

## おわりに

悪性新生物 (がん) は, 1981 年以降, 我が国における死因の第一位を占めている。平成 26 年度の人口動態調査の結果によると, 全死亡者に占める割合は 28.9% に上り, 全死亡者のうち 3.5 人に 1 人が, がんが原因で亡くなっていることが分かる。この背景には, 医学の進歩などにより, 死因となる他の疾患が減少していることや, がんに罹るリスクが高い高齢者の総人口比が増加してきていることが挙げられる。しかしながら, がんは生命を脅かす要因であることは明らかであり, がんに対する不安が取り除かれることは, 誰もが望むところであろう。そのためには, がんにならない予防はもちろん, がんに打ち勝つ治療の確立が必要である。画期的な抗悪性腫瘍薬の創製は, がんの治療において選択肢の多様性を生む。その潮流が低分子医薬品から高分子医薬品あるいは中分子医薬品へシフトする一方で, 含金属化合物を用いた創薬も同様に注目されている。テトラゾラト架橋錯体が, 次世代白金制がん剤として更なる発展を迎え, より良いがん治療の確立へ貢献することが期待される。

## 謝 辞

本稿の執筆の機会を与えていただいた鈴鹿医療科学大学薬学部 鈴木宏治教授に, 心より感謝申し上げます。また, 本稿の執筆にあたり, 有益なご助言をいただいた鈴鹿医療科学大学薬学部 米田誠治准教授に, 厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

1) Rosenberg B, Van Camp L, Krigas T: Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from

a platinum electrode. *Nature* 205, 698-699, 1965.

- 2) Mansy S, Rosenberg B, Thomson A: Binding of cis- and trans-dichlorodiammineplatinum(II) to nucleosides. I. Location of the binding sites. *Journal of the American Chemical Society* 95, 1633-1640, 1973.
- 3) Blommaert FA, Van Dijk-Knijenburg HC, Dijt FJ et al.: Formation of DNA adducts by the anticancer drug carboplatin: Different nucleotide sequence preferences *in vitro* and in cells. *Biochemistry* 34, 8474-8480, 1995.
- 4) Eastman A: Reevaluation of interaction of cis-dichloro (ethylenediamine) platinum(II) with DNA. *Biochemistry* 25, 3912-3915, 1986.
- 5) Fichtinger-Schepman AMJ, Van Der Veer JL, Den Hartog JH et al.: Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) with DNA: Formation, identification, and quantitation. *Biochemistry* 24, 707-713, 1985.
- 6) Fichtinger-Schepman AMJ, Van Oosterom AT, Lohman PH et al.: Cis-diamminedichloroplatinum(II)-induced DNA adducts in peripheral leukocytes from seven cancer patients: Quantitative immunochemical detection of the adduct induction and removal after a single dose of cis-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer research* 47, 3000-3004, 1987.
- 7) Reed E, Ostchega Y, Steinberg SM et al.: Evaluation of platinum-DNA adduct levels relative to known prognostic variables in a cohort of ovarian cancer patients. *Cancer research* 50, 2256-2260, 1990.
- 8) Plooy AC, Fichtinger-Schepman AMJ, Schutte HH et al.: The quantitative detection of various Pt-DNA-adducts in chinese hamster ovary cells treated with cisplatin: Application of immunochemical techniques. *Carcinogenesis* 6, 561-566, 1985.
- 9) Rixe O, Ortuzar W, Alvarez M et al.: Oxaliplatin, tetraplatin, cisplatin, and carboplatin: Spectrum of activity in drug-resistant cell lines and in the cell lines of the national cancer institute's anticancer drug screen panel. *Biochem. Pharmacol.* 52, 1855-1865, 1996.

- 10) Siddik ZH: Cisplatin: Mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* 22, 7265-7279, 2003.
- 11) Yonezawa A, Masuda S, Yokoo S et al.: Cisplatin and oxaliplatin, but not carboplatin and nedaplatin, are substrates for human organic cation transporters (SLC22A1-3 and multidrug and toxin extrusion family). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 319, 879-886, 2006.
- 12) Faggiani R, Lippert B, Lock C et al.: Hydroxo-bridged platinum(II) complexes. 1. Di- $\mu$ -hydroxo-bis [diammineplatinum(II)] nitrate,  $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{OH})_2\text{Pt}(\text{NH}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ . Crystalline structure and vibrational spectra. *Journal of the American Chemical Society* 99, 777-781, 1977.
- 13) Faggiani R, Lippert B, Lock C et al.: Hydroxo-bridged platinum(II) complexes. 2. Crystallographic characterization and vibrational spectra of cyclo-tri- $\mu$ -hydroxo-tris[cis-diammineplatinum(II)] nitrate. *Inorganic Chemistry* 16, 1192-1196, 1977.
- 14) Komeda S, Lutz M, Spek AL et al.: New antitumor-active azole-bridged dinuclear platinum(II) complexes: Synthesis, characterization, crystal structures, and cytotoxic studies. *Inorganic chemistry* 39, 4230-4236, 2000.
- 15) Komeda S, Ohishi H, Yamane H et al.: An nmr study and crystal structure of  $[\{\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(9\text{EtG-N7})\}_2(\text{I-pz})][\text{NO}_3]_2$  (9EtG= 9-ethylguanine) as a model compound for the 1,2-intrastrand GG crosslink. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 2959-2962, 1999.
- 16) Komeda S, Lin YL, Chikuma M: A tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complex exhibits markedly high *in vivo* antitumor activity against pancreatic cancer. *ChemMedChem* 6, 987-990, 2011.
- 17) Komeda S, Takayama H, Suzuki T et al.: Synthesis of antitumor azolato-bridged dinuclear platinum(II) complexes with *in vivo* antitumor efficacy and unique *in vitro* cytotoxicity profiles. *Metallomics* 5, 461-468, 2013.
- 18) Uemura M, Suzuki T, Nishio K et al.: An *in vivo* highly antitumor-active tetrazolato-bridged dinuclear platinum (II) complex largely circumvents *in vitro* cisplatin resistance: Two linkage isomers yield the same product upon reaction with 9-ethylguanine but exhibit different cytotoxic profiles. *Metallomics* 4, 686-692, 2012.
- 19) Uemura M, Hoshiyama M, Furukawa A et al.: Highly efficient uptake into cisplatin-resistant cells and the isomerization upon coordinative DNA binding of anticancer tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complexes. *Metallomics* 7, 1488-1496, 2015.
- 20) Bancroft DP, Lepre CA, Lippard SJ: Platinum-195 nmr kinetic and mechanistic studies of *cis*- and *trans*-diamminedichloroplatinum(II) binding to DNA. *J. Am. Chem. Soc.* 112, 6860-6871, 1990.
- 21) Komeda S, Lutz M, Spek AL et al.: A novel isomerization on interaction of antitumor-active azole-bridged dinuclear platinum(II) complexes with 9-ethylguanine. Platinum(II) atom migration from N2 to N3 on 1, 2, 3-triazole. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 4738-4746, 2002.
- 22) Komeda S, Yamane H, Chikuma M et al.: A kinetic study on the reactions of azolato-bridged dinuclear platinum(II) complexes with guanosine 5'-monophosphate. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2004, 4828-4835, 2004.
- 23) Imai R, Komeda S, Shimura M et al.: Chromatin folding and DNA replication inhibition mediated by a highly antitumor-active tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complex. *Sci. Rep.* 6, 2016.
- 24) Mlcouskova J, Kasparkova J, Suchankova T et al.: DNA conformation and repair of polymeric natural DNA damaged by antitumor azolato-bridged dinuclear Pt(II) complex. *J. Inorg. Biochem.* 114, 15-23, 2012.
- 25) Teletch a S, Komeda S, Teuben JM et al.: A pyrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complex induces only minor distortions upon DNA-binding. *Chemistry-A European Journal* 12, 3741-3753, 2006.
- 26) Spiegel K, Magistrato A, Carloni P et al.: Azole-bridged

diplatinum anticancer compounds. Modulating DNA flexibility to escape repair mechanism and avoid cross resistance. *The Journal of Physical Chemistry B* 111, 11873-11876, 2007.

27) Uemura M, Yoshikawa Y, Chikuma M et al.: A circular dichroism study uncovers a two-step interaction of antitumor azolato-bridged dinuclear platinum(II) complexes with calf thymus DNA. *Metallomics* 4, 641-644, 2012.

28) Uemura M, Yoshikawa Y, Yoshikawa K et al.: Second-

and higher-order structural changes of DNA induced by antitumor-active tetrazolato-bridged dinuclear platinum (II) complexes with different types of 5-substituent. *J. Inorg. Biochem.* 127, 169-174, 2013.

29) Yoshikawa Y, Komeda S, Uemura M et al.: Highly efficient DNA compaction mediated by an *in vivo* antitumor-active tetrazolato-bridged dinuclear platinum (II) complex. *Inorganic Chemistry* 50, 11729-11735, 2011.

# Study on mechanism of action of highly anti-tumor active tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complex

Masako UEMURA

Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Suzuka University of Medical Science

**Key words:** Platinum(II) dinuclear complex, Anti-cancer drug, DNA, Covalent interaction, Non-covalent interaction, Cellular uptake

---

## Abstract

Platinum anti-cancer drugs play important roles in cancer chemotherapy. The history of development was triggered by the serendipitous discovery of cisplatin. To date, three platinum anti-cancer drugs, cisplatin, carboplatin and oxaliplatin, are widely available for clinical use all over the world. Next-generation platinum anti-cancer drug is required for overcoming clinical problems, such as side effects and drug-resistant cancer. Tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complexes (tetrazolato-bridged complex) have two platinum atoms and two positive charges, which are greatly different from existing platinum anti-cancer drugs. Some of them are reported to have *in vivo* anti-cancer efficacy, and therefore tetrazolato-bridged complex is an expected candidate as a next-generation anti-cancer drug. They provide two kinds of interactions with DNA. One is a covalent interaction, which yields a distinctive DNA adduct, and the other is a non-covalent interaction, which is not observed for existing platinum drugs. It is suggested that tetrazolato-bridged complex leads a secondary, higher-order and chromatin structural changes of DNA through non-covalent interactions. The structural characteristics are expected to cause these kinds of interactions. Especially, a positive charge could also contribute to an uptake into cells. Tetrazolato-bridged complex with less bulky substituent and positive charge tends to be taken many more into cells and consequently exhibits a higher cytotoxicity.

略 歴

---

**植村 雅子** (博士 [薬科学]) 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

学 歴 :

- 平成 18 年 広島大学 医学部 総合薬学科 卒業
- 20 年 広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 博士課程前期 修了
- 27 年 大阪薬科大学大学院 薬学研究科 博士号取得

職 歴 :

- 平成 20 年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 助手
- 28 年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 助教 (現職)

受賞歴 :

- 平成 22 年 第 20 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (SRM2010) ポスター賞
- 23 年 The 5<sup>th</sup> International Conference on Metals and Genetics (ICMG) Poster Presentation Award
- 26 年 第 4 回メタロミクス研究フォーラム Young Scientist Award
- 27 年 1st International Symposium on Clinical and Experimental Metallodrugs in Medicine: Cancer Chemotherapy (CEMM) Poster Prize

研究内容 :

制がん白金錯体の作用機序の解明