

DNA 標的部を持つ二核銅錯体：がん細胞選択的細胞毒性における DNA 標的の役割

○畑 真知¹・小寺 政人¹ (1 同大院理工)

Roles of DNA-Target in Cancer-Cell-Selective Cytotoxicity by Dicopper Complexes with DNA-Target/Ligand Conjugates (Graduate School of Science and Engineering, Doshisha University¹) HATA, Machi¹; KODERA, Masahito¹

我々は、がん細胞の微小環境(低 pH, 高い H₂O₂ 濃度、高い抗酸化物質濃度)を利用して、がん細胞選択的毒性を示す二核銅錯体を開発してきた。その中で 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) を金属結合部位とする Hbcamide 配位子(Fig 1)の二核銅錯体[Cu₂(μ-OH)(hbcamide)](ClO₄)₂ (**1**)が H₂O₂ を用いた DNA 切断を大きく加速すること、また **1** に DNA 標的部として 9-phenanthrenyl (P) を化学結合で導入した二核銅錯体(**1**^{P2})が DNA 切断の更なる加速とがん細胞選択的毒性を向上させること見出した^[1,2]。そこで DNA 標的の役割を明確にし、がん細胞選択的毒性をさらに向上させるため、9-phenanthrenyl (P) または methyl (M) を持つ様々な長さの PEG リンカーを導入した一連の配位子(HL^X, X=Pn および Mn, n=1-3) (Fig 1) を新たに合成した^[3]。これらの二核銅錯体[Cu₂(μ-OH)(L^X)](ClO₄)₂ (**1**^X)の DNA 結合、DNA 切断、細胞内取り込み、細胞毒性を調べ、**1** との比較から DNA 標的の役割を明確にし、がん細胞選択的毒性の向上に成功した。**1**^X は **1** と同様に H₂O₂ と反応して μ-1,1-O₂H 種を形成し、DNA の切断を加速した。実際に **1**^{P1}、**1**^{P2}、**1**^{P3} は、H₂O₂ 存在下、スーパーコイルプラスミド pUC19 DNA との反応において DNA の二本鎖切断(double strand break, dsb)が必要な Form II から III への変換で、**1** の 22、11、3 倍反応を加速した。これは P-リンカーが二核銅部位を DNA 近傍に固定させるために、リンカーの長さが短い程、DNA 鎖の 1 本目と 2 本目の切断の場所が近くなり鎖状 DNA である Form III の生成が促進されたためである。さらに、**1**^X の細胞内での DNA 切断活性と細胞毒性の関係を明らかにする為に、細胞内 DNA の dsb 活性と細胞毒性の相関を調べた。その結果、**1**^{P1-3} では PEG リンカーが短いほど細胞内 DNA の dsb 活性と細胞毒性が高く、これらに 44%の相関がみられたが、**1**^{M1-3} では 5%しか相関していないことが明らかになった。このことから、P-リンカーは細胞内で DNA と特異的に結合し、DNA dsb を加速することによって細胞毒性を発現することが示唆された。加えて、**1**^{P1-3} は肺がん、膵臓がん、正常細胞に対してがん細胞選択的毒性を示し、短い P-linker は選択性を大きく向上させたが、**1**^{M1-3} のがん細胞選択性は低かった。さらに **1**^{P1-3} の細胞内可視化、**1**^{P1-3} 及び **1**^{M1-3} のアポトーシスアッセイやカスパーゼ活性の測定により、**1**^{P1-3} がミトコンドリアアポトーシスを誘導することを明らかにした。今回は、これらの結果について詳細に報告する。

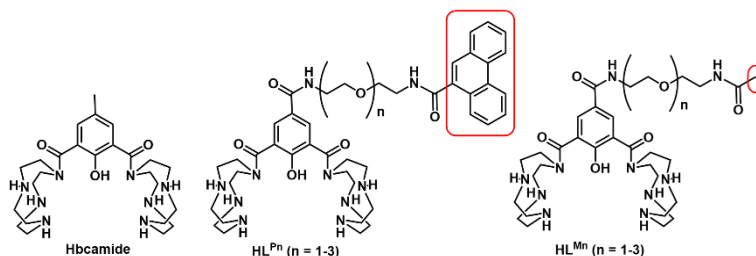


Fig 1. Chemical structures of Hbcamide and HL^X (X=Pn or Mn, n=1-3).

[1] Kadoya, Y.; Fukui, K.; Hata, M.; Miyano, R.; Hitomi, Y.; Yanagisawa, S.; Kubo, M.; Kodera, M. *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 14294–14298.

[2] Hata, M.; Itski, S.; Kadoya, Y.; Tanaka, Y.; Hitomi, Y.; Kodera, M. *Dalton Trans.*, **2022**, *51*, 4720–4727.

[3] Hata, M.; Jin, Ueno.; Hitomi, Y.; Kodera, M. *ACS Omega.*, in revise.