

次世代白金抗がん薬開発の現状

千熊正彦*, 佐藤卓史, 米田誠治

Current Status and Future Perspectives of Platinum Antitumor Drugs

Masahiko CHIKUMA*, Takaji SATO, and Seiji KOMEDA

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki City 569-1094, Japan

(Received October 15, 2007)

Cisplatin, a simple inorganic compound, has been one of the leading antitumor drugs for near 30 years. However, cisplatin has several drawbacks such as toxicity and drug resistance. Therefore, much attention has been focused on the development of new platinum complexes with improved pharmacological properties and a broader spectrum of activity to tumors. The recent advance of research on the molecular mechanisms of drug action and the cellular mechanisms of the emergence of resistance to cisplatin assists the rational design of new classes of platinum antitumor drugs, though details of both mechanisms still remain elusive. Information on DNA binding mode of platinum complexes, recognition and repair of DNA damage is instructive. Since several *not cis isomers but trans isomers* and *not neutral complexes but cation complexes* have been found active *in vitro* and *in vivo*, the early empirical structure-activity relationships of cisplatin analogues should be reevaluated. The hypothesis that platinum complexes which bind to DNA in a different manner will have different pharmacological properties has been tested, and now cationic multi-nuclear complexes and even trans-platinum complexes comprise unique classes of antitumor platinum-based agents with chemical and biological properties different from cisplatin. These new type platinum complexes are often effective to acquired cisplatin resistant tumor cells. In conclusion, the following complexes appear to offer great potential as new antitumor agents: (1) Complexes with distinctively different DNA interaction modes from cisplatin, which may circumvent intrinsic and acquired resistance to cisplatin through eluding the vigilance of DNA repair systems and (2) complexes with different tissue distribution or mechanisms of membrane transport which may exhibit a different spectrum of activity.

Key words—cisplatin; DNA; anticancer agent; apoptosis; drug resistance; repair

1. はじめに

シスプラチンは単純な構造の低分子白金錯体であるが、切れ味が鋭く、最も有効性の高い抗がん薬の1つである。米国において偶然に発見され、^{1,2)} 1978年にFDA、そして日本においては1984年に厚生省の承認を受けて以来25–30年にわたって、いくつかのがんに対する第一選択薬の地位を保っていることは医薬品としての生命の長い抗がん薬の中にあっても驚異的である。しかしながら、開発当初よりその厳しい副作用（腎毒性、悪心、嘔吐、難聴など）が知られている。シスプラチンの実用化に際して、重金属特有の腎毒性を軽減するために患者に大量の水分を投与する水分負荷法が開発されたことが大きく

貢献している。また、悪心、嘔吐に対してはセロトニン5-HT₃受容体遮断薬が開発され、患者の苦痛はかなり軽減されてきた。現在でも、腎毒性はシスプラチンの用量制限因子であり、また、シスプラチンは耐性ががんを誘発し易いことが臨床の場で問題となっている。

次世代白金抗がん薬の開発目標としては、シスプラチン耐性がんに有効な白金錯体やシスプラチンでは効果の弱いがんにも有効な白金錯体あるいは副作用の少ない錯体が挙げられ、内外において新しい白金抗がん薬の開発研究が盛んである。また、シスプラチンが簡単な構造の無機化合物であり、その構造活性相関あるいは核酸（DNA）との相互作用に始まる細胞内シグナル伝達過程を追究することは、制がん活性発現機構の解明や新規制がん剤の開発につながると思われるため、臨床面や医薬品開発面での研究のみならず、生物無機化学、生化学の観点から

大阪薬科大学（〒569-1094 高槻市奈佐原4-20-1）

*e-mail: chikuma@gly.oups.ac.jp

本総説は、日本薬学会第127年会シンポジウムS29で発表したものを中心に記述したものである。

の作用機構に関する研究, さらに分子生物学の立場からシスプラチンのアポトーシス誘導能や DNA の修復機構に関する研究などが盛んである.³⁻⁶⁾

以下, シスプラチンに関する従来の知見及び次世代抗がん白金錯体の開発研究の動向について概説する.

2. 現在までに承認を受けた白金抗がん薬

現在, 日本では Fig. 1 に示した 4 種の白金抗がん薬シスプラチン, カルボプラチン, ネダプラチン, オキサリプラチンが臨床使用されている. カルボプラチンはシスプラチンに較べて腎毒性が弱いために, シスプラチンに代って使われることが多くなっている. ネダプラチンは日本で開発された薬剤であるが, 外国では使われていない. オキサリプラチンは 2004 年に承認を受けた薬剤であるが, 元来は 1970 年代に名古屋市立大学薬学部名誉教授の喜谷喜徳氏により合成され, 基礎研究が喜谷研究室を中心に行われた化合物である.⁷⁾ オキサリプラチンは, シスプラチンには適応のない大腸がんに有効である. 近年日本でも欧米並みに大腸がん患者が増加しているため, オキサリプラチンの使用量は急速に増加している.

3. 構造—活性相関に関する経験則

白金(II)錯体は平面正方形の構造を取り, Pt(II)及び 4 つの配位(原)子が同一平面に存在する. そのため, Fig. 2 に示すトランスプラチンとは幾何異性の関係にある. 制がん活性のある単核錯体の一般式は, $cis[PtX_2(amine)_2]$ で表される. X は脱離基(leaving group)と呼ばれ, ハロゲンイオンやカルボキシル基などが使われる. アミンの窒素原子と白金原子との結合は, 核酸との反応では置換されることはないと考えられている. 一般に, シス型錯体には抗がん活性があるのに対して, トランス型錯体には活性がみられない. $[PtX(amine)_3]$ 型錯体も一般に有効ではない (Fig. 2).

シスプラチン開発過程で見い出された構造—活性相関に関する経験則を次のようにまとめた. ただし, 後述するように経験則に則さないが有望な化合物が最近いくつか見い出されている. それらの中にはシスプラチン耐性がんにも有効なものが多いことでも注目されている.

- (1) アンミン又はアミン配位子がシス型に結合した錯体が有効であり, トランス型錯体は無効で

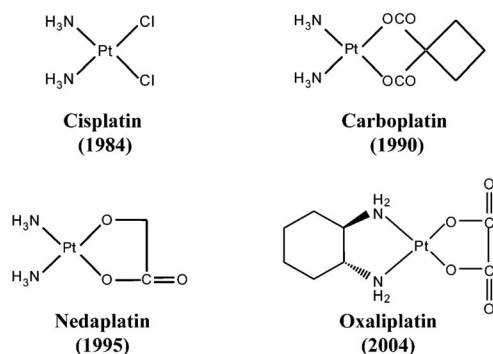


Fig. 1. Structures of Platinum-based Anticancer Drugs
Numerals in parenthesis mean year approved in Japan.

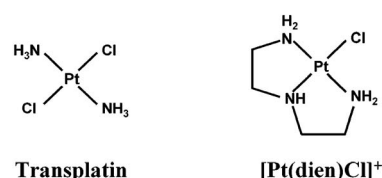


Fig. 2. Inactive Platinum Complexes

Transplatin (the geometric isomer of cisplatin) and monofunctional adduct-forming complex.

ある.

- (2) 電気的に中性の錯体が有効である.
- (3) 脱離基としては, カルボン酸やハロゲン化物イオンに有効例が多い.
- (4) 脱離基の置換反応が速すぎもせず遅すぎもしない中程度のものが多い.

4. シスプラチンの活性発現機構

シスプラチンは, 電荷ゼロの中性金属錯体であるため, がん細胞の膜を容易に透過して細胞内に入る. 血漿中では約 100 mmol/l であった塩化物イオン濃度が細胞内では数 mmol/l に低下するために白金に配位していた塩化物イオンは水分子によって置換される. この際の置換反応は, 5 配位中間体を経る正方平面型置換反応機構 (SN₂) に従う. 生成した水和錯体は 2 価の酸 ($pK_{a1}=5.4$, $pK_{a2}=7.2$)⁸⁾ として挙動し, 生理的 pH においては白金に配位した



千熊正彦

1942 年生まれ. 1965 年京都大学薬学部製薬化学科卒. 1965 年京都大学薬学部教務員 (放射性薬品化学教室: 田中久研究室). 1977-1978 年米国ミシガン州立大学博士研究員 (B. Rosenberg 研究室). 1985 年大阪薬科大学助教授 (分析化学教室). 1990 年同教授 (生体分析化学教室), 現在に至る.

水分子から水素イオンが電離するので、いくつかの白金錯体が平衡状態にある。⁹⁾ これらの加水分解産物が細胞内の DNA に結合してその複製を阻害する活性錯体であると信じられている。DNA はアデニン (A)、シトシン (C)、グアニン (G) 及びチミン (T) の 4 種を含んだヌクレオチドのポリマーであり、これら 4 種の核酸塩基はいずれも金属イオンと配位結合する能力があるが、白金錯体はグアニン塩基の 7 位の N に優先的に結合することが知られている。さらに、DNA に結合したシスプラチンの約 60% は隣り合ったグアニン塩基 (GG) に 1 本鎖交叉結合する。¹⁰⁾ DNA に白金のような重原子が結合することにより、DNA の複製が妨害され、また、アポトーシスが誘導されるために抗がん活性が発現されると考えられている。なお、DNA の複製阻害に関しては、この機構のみでシスプラチンの抗がん活性を説明することはできないと考えられている。また、細胞周期に対する影響についても、例えば、低濃度のシスプラチンでは G2 相で停止するものの細胞の一部は生存しており、その段階で生じるアポトーシスが抗がん活性の発現機構であるという考え方が提唱された。¹¹⁾

5. がん細胞の薬物耐性機構

がん細胞が耐性を獲得する機構はいくつか知られている (Fig. 3) が、シスプラチンに関しては、次のようにまとめられる。

- (1) 細胞内に薬剤が移行しないようにする機構を強化する
- (2) 細胞内に移行した薬剤を排出する機構を強化する
- (3) 細胞内に入った薬物を無毒化する機構を増強する
- (4) 核酸の修復システムを強化する

シスプラチンの膜輸送に関しては、ある種のリンパ腫細胞から単離された 200 kDa の P-糖タンパク質の発現量と耐性の程度に相関があることが認められた。すなわち、この糖タンパク質はシスプラチンの排出ポンプの役割を果たすものと推定されている。¹²⁾

シスプラチンは重金属であり、ソフトな酸であるため、ソフトな塩基であるチオール化合物と強く反応し、細胞内に数 mmol/l と高濃度で存在するグルタチオンあるいはメタロチオネインが耐性に関与

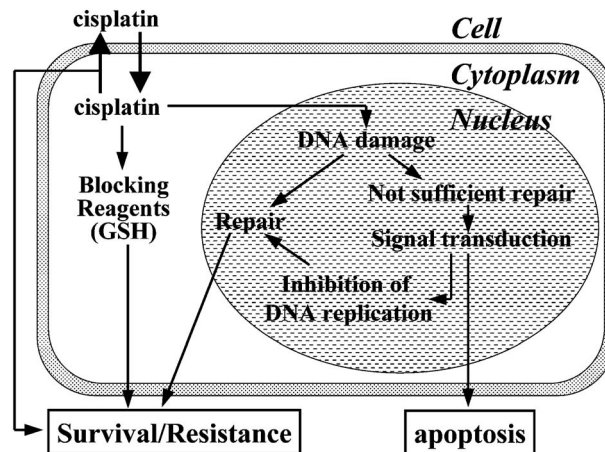


Fig. 3. The Possible Biological Outcomes of Cells Exposed to Cisplatin

るであろうと推定される。事実、獲得耐性を持つヒト子宮がん細胞でグルタチオン量が増加している例が認められている。¹³⁾ また、他の多くのがん細胞においても、シスプラチンに対する感受性とグルタチオン濃度との間には負の相関が認められている。¹⁴⁾ グルタチオンとシスプラチンは 2 : 1 で結合し、反応生成物は ATP 依存的に細胞膜から流出する。¹⁵⁾ 一方、メタロチオネインもシスプラチンと結合すること、¹⁶⁾ シスプラチン耐性を獲得したヒトがん細胞においてメタロチオネイン量が増加していること、重金属を暴露してメタロチオネインのレベルが上昇したがん細胞がシスプラチン耐性を示すこと、¹⁷⁾ さらに耐性を失うとメタロチオネインのレベルが低下することなどから、メタロチオネインはシスプラチンの耐性に関与しているものと考えられる。¹⁸⁻²⁰⁾ なお、グルタチオンを含む硫黄配位子に対するシスプラチンの化学反応については、優れた総説がある。²¹⁾

シスプラチンが結合することにより損傷を受けた DNA は、細胞の持つ修復機構により修復される。シスプラチンによる損傷は、生物の持つ様々な修復機構のなかで、主としてヌクレオチド除去機構 (nucleotide excision repair) により修復を受けると考えられている。²²⁾ サルの腎臓細胞を白金添加培地で培養したのち、DNA を抽出し白金量を測定したところ、シスプラチンでは、時間とともに DNA 結合白金量が増加するのに対し、トランスプラチンでは 6 時間程度までは増加するものの、それ以後は減

少し、24-48 時間後には最大値の 10% 程度にまで減少した。この実験結果から、トランスプラチンが結合した DNA は修復を受け易いと判断された。トランスプラチンは、構造的に 1,2-1 本鎖交叉結合することができず、1,3-1 本鎖結合 (Fig. 4) が優先するため、DNA の構造を大きく歪めるものと考えられている。修復酵素は大きく歪んだ DNA をより容易に修復すると考えれば、結合白金量がシスプラチンのそれと比べて大きな違いがないにも係わらず、なぜトランスプラチンの制がん活性が低いのかという疑問を説明することができる。²³⁾

ヌクレオチド除去修復には、損傷を受けた DNA を認識する多くのタンパク質が一般に関与している。²²⁾シスプラチンが結合した DNA を認識するタンパク質は、20 種以上知られている。²⁴⁾SSRP1 (structure-specific recognition protein) はシスプラチン結合型 DNA を認識して結合するが、トランスプラチン結合 DNA とは結合しない。また、SSRP1 は high mobility protein である HMGB1, HMGB2, HMG box に対して高いホモロジーを有している。HMGB1, HMGB2 は電気泳動に際して、大きな移動度を持つタンパク質として知られており、シスプラチン結合型 DNA と結合することが認められた。^{25,26)}また、DNA 修復能を遺伝的に欠いているために生じる色素性乾皮症患者において発現が低下しているタンパク質 XPE あるいは XPAC は DNA 修復に強く関与していると考えられているが、それらがシスプラチン結合型 DNA と結合すること、^{27,28)}また、シスプラチン耐性がん細胞においてこれらの

タンパク質が増加していることが報告されている。²⁸⁾

これらのタンパク質の役割の詳細は不明であるが、シスプラチン結合型 DNA は、もともとシスプラチン結合により大きく歪められているうえ、これらのタンパク質が付加することによりさらに歪められる。²⁴⁾HMGB1 や HMGB2 では、これらのタンパク質が結合した白金-DNA 複合体が修復酵素の接近を阻止することにより、シスプラチンの制がん活性発現に寄与しているという説^{29,30)}が提案されている。一方、それとは逆に XPE あるいは XPAC では、それらのタンパク質がシスプラチン結合 DNA に付加することが、修復酵素の認識に必須であり、修復機構の重要な役割を果たしているという相反する説²⁸⁾が提出されており、今後の研究の進展が望まれる。^{31,32)}

6. 複核白金錯体

現在、日本において市販されている 4 種の白金制がん剤 (Fig. 1) のうちオキサリプラチンを除く 3 種の薬剤は脱離基をはずしてみるとすべて同じ化学種となるので、生物活性に関して基本的に大きな違いが生じるとは考え難い。事実、オキサリプラチンはシスプラチン耐性がんにも有効であるが、他の 3 種に対してシスプラチン耐性がんは交叉耐性を示すといわれている。

最近、単核錯体とは全く異なる結合様式を持つ複核錯体の研究が行われ始めた。Farrell らは、アルキルジアミンを架橋配位子として用いて、一般式 $[\{PtCl_m(NH_3)_{3-m}(H_2N-R-NH_2)\}]_2^{(2-m)+}$ ($m=0-3$,

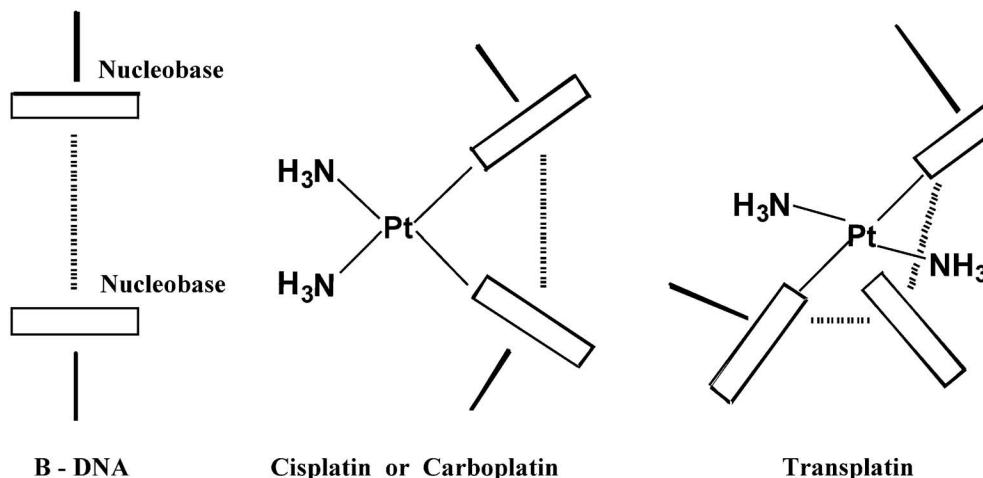


Fig. 4. Structural Change of Single Stranded DNA Modified with *cis*- and *trans*-Platinum Complexes

R=アルキル基) で表される一連の化合物を合成し, それらの構造-活性相関の研究を行っている.³³⁻³⁹⁾

千熊ら^{40,41)}及び Reedijk ら⁴²⁾は, アゾール系窒素化合物を架橋配位子とする二核錯体 (complex 1-4) を合成した (Fig. 5). これらの二核錯体のうち, ピラゾールと水酸化物イオンが架橋した complex 1 は, 核酸塩基と結合する際, 優先的に1本鎖交叉結合し, しかも隣あったグアニンをスタッキングさせることが X 線構造解析により明らかになった (Fig. 6). このことから, complex 1 は DNA に1本鎖交叉結合して, DNA の構造を大きくは歪めないと考えられた. シスプラチンとトランスプラチンの制がん活性の相違は, 修復酵素が小さな歪みの DNA を認識し難く, 大きな歪みの DNA を認識し易いことに基づいていると考えることができる.^{43,44)} この仮説に従えば, 白金錯体の制がん活性には, DNA の局所的な歪みや塩基対の開裂はかならずしも必要でなく, むしろ DNA に大きな歪みを与えずに鎖内に隣接する塩基間を架橋することが重要なのではないかとわれわれは推定し, シスプラチ

ンのような単核錯体とは結合様式が異なり, かつ, がん細胞の修復酵素に認識され難い白金-DNA 結合物を形成する白金錯体が, 特にシスプラチン耐性がん細胞に有効であろうと考えた.

Figure 7 にシスプラチン及びピラゾール架橋型二核錯体が DNA の1本鎖に結合する様子を模式的に表した. シスプラチンは, DNA の鎖内の d

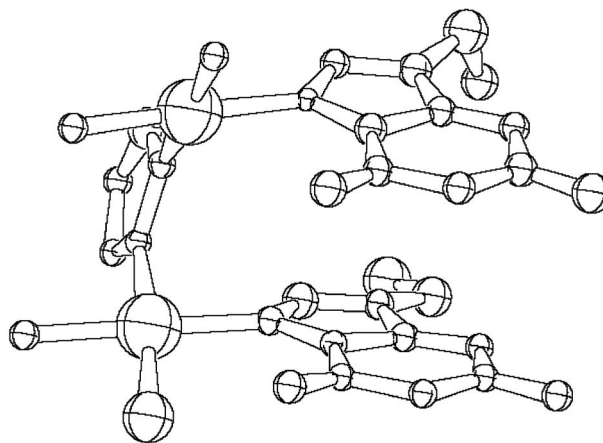


Fig. 6. Projections of the Molecular Structure of the Cation $[\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(9\text{EtG-N7})_2(\mu\text{-pz})]^{3+}$ with H atoms omitted. Two guanine planes are arranged in parallel and well-stacked.³²⁾

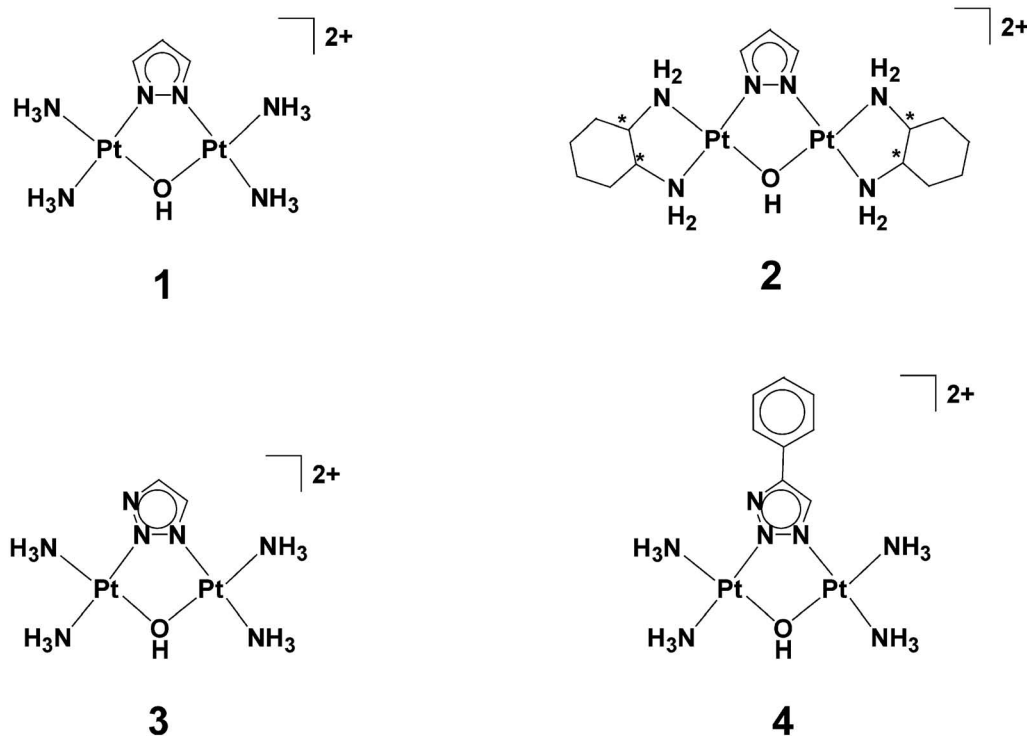


Fig. 5 Structures of Azolato-bridged Dinuclear Platinum (II) Complexes

$[\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-pyrazolato})]^{2+}$ (1), $[\text{cis-Pt}(\text{diaminocyclohexane})_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-pyrazolato})]^{2+}$ (2), $[\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-1,2,3-triazolato})]^{2+}$ (3), $[\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-4-phenyl-1,2,3-triazolato})]^{2+}$ (4).

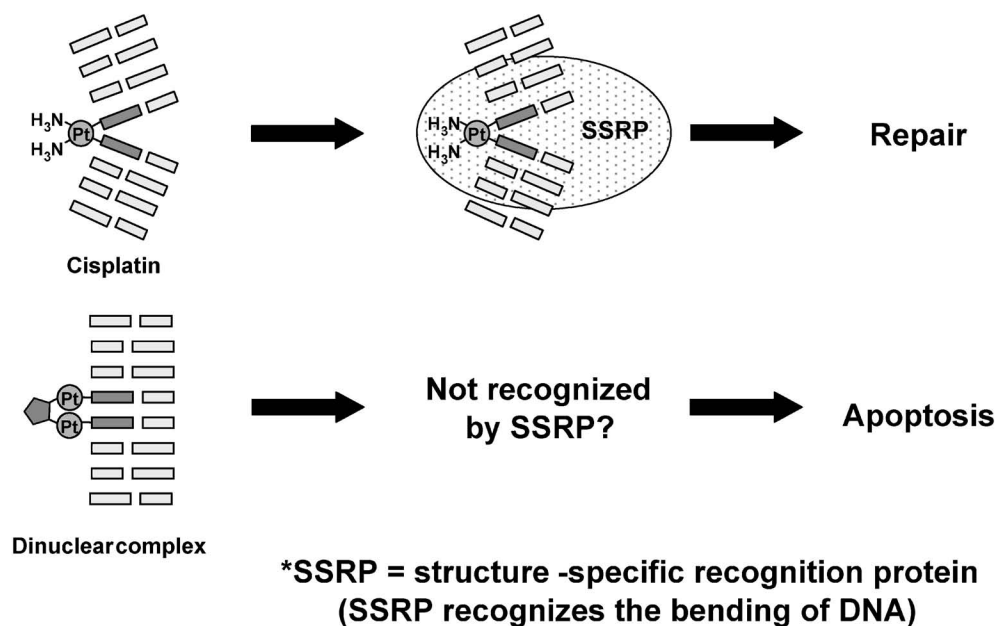


Fig. 7. Model for DNA Distortion in the Mechanism of Repair/Apoptosis of Tumor Cells

(pGpG) の N7 窒素原子間を架橋し、その距離を約 1 Å 縮めることによって局部的に二重らせんの Watson-Crick 塩基対の開裂を引き起こす。²⁴⁾ 一方、ピラゾール架橋型二核錯体は、低分子核酸塩基との反応物の X 線構造解析の結果から、Fig. 7 に示すように DNA の構造を大きくは乱さないと推定された。さらに、complex 1 及びその誘導体はシスプラチン耐性 L1210 細胞に有効であり (Table 1)、また、多くのがん細胞の増殖抑制能を示す (Table 2)。さらにアポトーシスを誘導する。⁴³⁾ これらピラゾールを始めとするアゾール類を架橋配位子とする二核錯体は低分子の核酸塩基に対する反応速度に関してはシスプラチンより遅いが、DNA に対してはむしろシスプラチンより速い。これは、この系列の二核錯体がカチオンであるにも係わらず細胞内に取り込まれ、DNA と静電的に相互作用し、ついで非共有結合性の相互作用や共有 (配位) 結合を生じるためと考えられる。⁴³⁾

7. 臨床治験中の白金抗がん薬

以下に述べる錯体は現在臨床治験中である。これらの中から次世代白金抗がん薬が生まれるものと期待される。

BBR-3464 (Fig. 8) は、従来の抗がん性白金錯体の概念を変えるものであった。カチオン錯体であるだけでなく、分子量の大きい三核錯体であり、

Table 1. *In vitro* Cytotoxicity Assay of Complexes 1, 3 and 4 and Cisplatin on L1210 Murine Leukemia Cell lines Sensitive (L1210(0)) and Resistant (L1210(cisPt)) to Cisplatin

Test compound ^{a)}	IC ₅₀ (μM)		Rf ^{b)}
	L1210(0)	L1210(cisPt)	
1	10.7 ± 1.1	15.0 ± 1.0	1.4
3	0.5 ± 0.2	1.1 ± 0.3	2.2
4	2.0 ± 0.2	11.6 ± 1.0	5.8
Cisplatin	4.8 ± 0.3	19.3 ± 1.2	4.0

^{a)} Test compounds are shown in Fig. 6. ^{b)} Rf = the relative ratio of IC₅₀ values in both cell lines (L1210(cisPt)/L1210(0)). Cited from Ref. 43.

DNA との相互作用様式がシスプラチンの場合と大きく異なっている。特に中央の白金は DNA と配位結合する能力を持たないが、DNA と水素結合などの非共有性結合相互作用を通して DNA との結合に関与する。両端の白金が DNA と配位結合するが、単核錯体のシスプラチンの場合に比べてはるかに交叉結合間の距離が長くなる。そのため、この後に生じる細胞内の各種生化学反応過程 (例えば、白金結合部位を認識するタンパク質の発現や修復酵素による修復など) もシスプラチンとは大きく異なると思われる。実際、シスプラチンの場合に作用する修復酵素は BBR-3464 の場合には作用しないことが認められている。抗がん活性はシスプラチンより高く、シスプラチン耐性がんにも有効であったので、

Table 2. *In vitro* Cytotoxicity Assay of the Azolato-bridged Dinuclear Pt (II) Complexes 1-4 and Cisplatin on Human Tumor Cell Lines

Test compound ^{a)}	IC ₅₀ (μM)						
	MCF7	EVSA-T	WIDR	IGROV	M19	A498	H226
1	0.06	0.15	0.12	0.59	0.05	0.53	0.68
2	12.8	20.9	>72.6	25.6	13.2	59.1	>72.6
3	0.09	0.32	0.40	0.13	0.19	1.24	2.72
4	26.2	19.4	3.66	2.33	35.3	21.6	19.1
cisplatin	2.33	1.41	3.22	0.56	1.86	7.51	10.9

MCF7 : breast cancer, EVSA-T : breast cancer, WIDR : colon cancer, IGROV : ovarian cancer, M19 : melanoma, A498 : renal cancer, H226 : non-small cell lung cancer. a) Test compounds are shown in Fig. 6. Cited from Ref. 43.

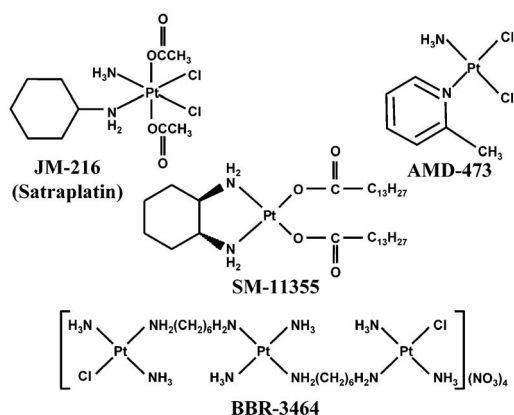


Fig. 8. Structures of Platinum (II) Complexes under Clinical Trial

1998年に臨床治験に入った。臨床治験第I相の結果から、副作用としては下痢が主たるもので、腎毒性は強くなかった。³⁶⁾

JM216 (サトラプラチン) の特徴は白金(IV) 錯体であり、経口薬であることである。⁴⁴⁾ サトラプラチンの開発コンセプトは、シスプラチンと同等の活性を持ち、副作用はカルボプラチンより弱い経口の白金抗がん剤を目指すことであった。1980年代前半に合成され、白金(IV) 錯体としては最初の抗がん活性化合物であった。白金(IV) 錯体は一般にグルタチオンにより白金(II) に還元されるので、生体内では白金(II) に還元されて、活性を示すものと推定されている。サトラプラチンは動物実験でシスプラチンと同等の活性を示したので、1992年に臨床治験が開始された。その結果、腎臓、中枢神経系などへの毒性は重大ではなく、悪心・嘔吐も弱く、経口制吐剤で制御ができる程度であった。現在第III相臨床治験が前立腺がん等を対象にして計画されている。⁴⁵⁾

AMD473は、ピリジン環上の2の位置にあるメチル基の存在のために、クロロ配位子と生体成分との置換反応が立体障害を受ける。そのためにAMD473は細胞内のDNAに到達するまでは、生体チオールなどと反応せずにDNAと結合すると考えられている。AMD473は、シスプラチン耐性がんにも有効であるとのことである。⁴⁶⁾

三核白金錯体に関しては、Fig. 9に示すAH44やAH78のようなBBR-3464の誘導体が合成された。これらは多価カチオンであるが、細胞内に多く取り込まれる。また、DNAとの間で配位結合生成が期待できないにも係わらず、シスプラチンとほぼ同等の抗がん活性を示す。⁴⁷⁾

SM-11355は日本で開発中の抗がん薬で、現在臨床第II相の段階である。脂溶性であり、リピドール(ヨウ化ケシ油脂肪酸エチルエステル)と混和して肝動脈に注射すると腫瘍選択性が向上し、肝細胞がんにも有効とされている。⁴⁸⁾ このように製剤的な工夫により、新しい抗がん薬を開発することも重要である。

8. おわりに

白金錯体の標的分子がDNAであることに関しては、多くの研究者に認められている。しかしその相互作用様式に関しては多種類あり、それらに続いて生じる細胞内生化学反応の過程がどのように異なるのかについてはほとんど知られていない。次世代白金抗がん薬の開発は、細胞内の修復酵素やアポトーシスなどに関与するタンパク質の作用機構を理解した上で計画されるようになると考えられる。

最近がん細胞に特異的な分子機構が明らかにされるにつれ、それに関与する生化学反応などを制御することによって治療へ応用しようとする分子標的治

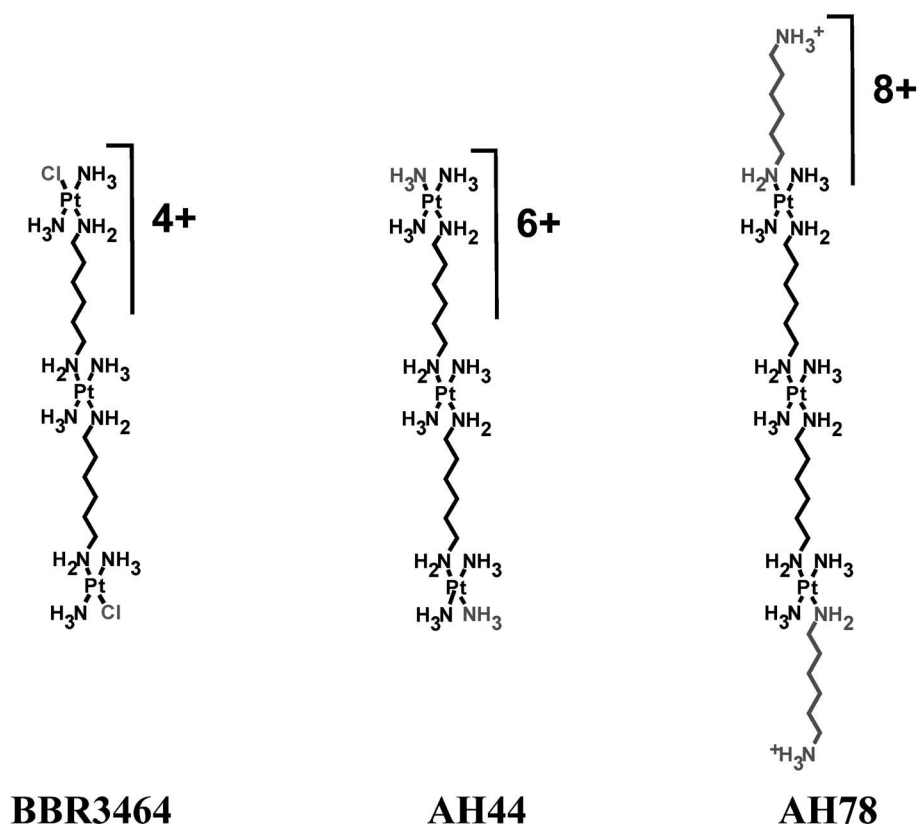


Fig. 9. Polynuclear Platinum (II) Complexes
Uptake by cancer cells: AH78>AH44>BBR3464.

療の研究が新しい流れになっており、多くの分子標的薬が生まれている。新しい白金抗がん薬の開発に当たっても、シスプラチンの研究から得られた構造生物学的及び細胞生化学的研究成果を基にして、より活性が強く、より副作用の弱い薬物が開発されるようになると考えられる。また、正常細胞には最小限の傷害しか与えないようにするために、シスプラチンをがん細胞に選択的に送達する実用的デリバリー技術の発展が望まれる。

謝辞 本論文に取り上げたアゾール架橋二核白金錯体の研究に当たり、有益な助言及びご支援を頂いた共同研究者の皆様、実験にご協力頂いた大阪薬科大学生体分析化学研究室の大学院生・学生諸氏に厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は学術振興会科学研究費補助金、文部科学省ハイテク・リサーチ・センター整備事業による私学助成の援助により行われたことを記して感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Rosenberg B., Van Camp L., Krigas T., *Nature* (London), **205**, 698–699 (1965).
- 2) Rosenberg B., Van Camp L., Trosko J. E., Mansour V. E., *Nature* (London), **222**, 385–386 (1969).
- 3) Keppler B. K., “Metal Complexes in Cancer Chemotherapy,” VCH, Weinheim, 1999.
- 4) Lippert B., “Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug,” Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
- 5) Farrell N. P., “Use of Inorganic Chemistry in Medicine,” Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999.
- 6) Barnes K. R., Lippard S. J., “Metal Ions in Biological Systems, Vol. 42,” eds. by Sigel S., Sigel H., Marcel Dekker, N. Y., 2004, pp. 143–177.
- 7) Kidani Y., Inagaki K., Tsukagoshi S., *Gann*, **69**, 863 (1978).
- 8) Martin R. B., “Cisplatin-Chemistry and

- Biochemistry of a Leading Anticancer Drug,” ed. by Lippert B., Wiley-VCH, Weinheim, 1999, pp. 183–205.
- 9) Arpalahiti A., “Perspectives on Bioinorganic Chemistry,” eds. by Hay R. W., Dilworth J. R., Nolan K. B., JAI Press, New Haven, 1999.
 - 10) Berg J. M., Lippard S. J., “Principles of Bioinorganic Chemistry,” University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
 - 11) Eastman A., *Cancer Cells*, **2**, 275–280 (1990).
 - 12) Kawai K., Kamatani N., Georges E., Ling V., *J. Biol. Chem.*, **265**, 13137–13142 (1990).
 - 13) Chu G., *J. Biol. Chem.*, **269**, 787–790 (1994).
 - 14) Hosking L. K., Whelan R. D. H., Shellard S. A., Bedford P., Hill B. T., *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 1833–1842 (1990).
 - 15) Ishikawa T., Ali-Osman F., *J. Biol. Chem.*, **268**, 20116–20125 (1993).
 - 16) Kraker A., Schmidt J., Krezoski S., Peterring D.H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **130**, 786–792 (1985).
 - 17) Naganuma A., Satoh M., Imura N., *Toxicol. Lett.*, **24**, 203–207 (1985).
 - 18) Andrews P. A., Murphy M. P., Howell S. B., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **19**, 149–154 (1987).
 - 19) Kelly S. L., Basu A., Teicher B., Hacker M., Harmer D., Lazo J., *Science*, **241**, 1813–1815 (1988).
 - 20) Naganuma A., *Biomed. Res. Trace Elem.*, **11**, 99–103 (2000).
 - 21) Reedijk J., *Chem. Rev.*, **99**, 2499–2510 (1999).
 - 22) Sancar A., *Science*, **266**, 1954–1956 (1994).
 - 23) Ciccarelli R., Solomon M., Varshavsky A., Lippard S. J., *Biochemistry*, **24**, 7533–7540 (1985).
 - 24) Jamieson E. R., Lippard S. J., *Chem. Rev.*, **99**, 2467–2498 (1999).
 - 25) Pil P. M., Lippard S. J., *Science*, **256**, 234–237 (1992).
 - 26) Hughes E. N., Engelsberg B. N., Billings P. C., *J. Biol. Chem.*, **267**, 13520–13527 (1992).
 - 27) Jones C. J., Wood R. D., *Biochemistry*, **32**, 12096–12104 (1993).
 - 28) Chu G., Chang E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**, 3324–3327 (1990).
 - 29) Zamble D. B., Lippard S. J., *Trends Biochem. Sci.*, **20**, 435–439 (1995).
 - 30) Huang J.-C., Zamble D. B., Reardon J. T., Lippard S. J., Sancar A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 10394–10398 (1994).
 - 31) Zorba H., Keppler B. K., *ChemBioChem*, **6**, 1157–1166 (2005).
 - 32) Brabec V., Kasparkova J., *Drug Resist. Updat.*, **8**, 131–146 (2005).
 - 33) Farrell N., Qu Y., Hacker M. P., *J. Med. Chem.*, **33**, 2179–2184 (1990).
 - 34) Farrell N., Spinelli S., “Uses of Inorganic Chemistry in Medicine,” ed. by Farrell N., Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999, pp. 124–134.
 - 35) Farrell N., “Advances in DNA Sequence Specific Agents,” Vol 2, eds. by Hurley L. H., Chaires J. B., JAI Press, New Haven, 1996, pp. 187–216.
 - 36) Farrell N., Qu Y., Bierbach U., Valsecchi M., Menta E., “Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drugs,” ed. by Lippert B., Wiley-VCH, Weinheim, 1999, pp. 479–496.
 - 37) Kasparkova J., Novakova O., Vrana O., Farrell N., Brabec V., *Biochemistry*, **38**, 10997–11005 (1999).
 - 38) Zaludova R., Zakovska A., Kasparkova J., Balcarova Z., Kleinwachter V., Vrana O., Farrell N., Brabec V., *Eur. J. Biochem.*, **246**, 508–517 (1997).
 - 39) Kasparkova J., Farrell N., Brabec V., *J. Biol. Chem.*, **275**, 15789–15798 (2000).
 - 40) Chikuma M., Hirai M., Komeda S., Kimura Y., Kumakura K., *J. Inorg. Biochem.*, **67**, 348 (1997).
 - 41) Komeda S., Oishi H., Yamane H., Harikawa M., Chikuma M., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1999**, 2959–2962.
 - 42) Komeda S., Lutz M., Spek A. L., Chikuma M., Reedijk J., *Inorg. Chem.*, **39**, 4230–4236, (2000).
 - 43) Komeda S., Chikuma M., “Metal Compounds in Cancer Chemotherapy,” eds. by Perez J. M., Fuertes M. A., Alonso C., Research Signpost, Kelala, 2005, pp. 219–239.
 - 44) Barnard C. F. J., Raynaud F. I., Kelland L. R., “Metallopharmaceuticals I,” eds. by Clarke M. J., Sadler P. J., Springer-Verlag, Berlin, 1999, pp. 45–71.
 - 45) Sternberg C. N., Whelan P., Hetherington J.,

- Paluchowska B., Slee P. H. Th. J., Vekemans K., Van Erps P., Theodore C., Koriakine O., Oliver T., Lebwohl D., Debois M., Zurlo A., Collette L., *Oncology*, **68** (1), 2–9 (2005).
- 46) Wheats N. J., Collins J. G., *Coord. Chem. Rev.*, **241**, 133–145 (2003).
- 47) Harris A. L., Yang X., Hegmans A., Povirk L., Ryan J. J., Kelland L., Farrell N. P., *Inorg. Chem.*, **44**, 9598–9600 (2005).
- 48) Okusaka T., Okada S., Nakanishi T., Fujiyama S., Kubo Y., *Invest. New Drugs*, **22**, 169–176 (2004).