

Significance of 5-fluorouracil-related enzyme activities in predicting sensitivity to 5-fluorouracil in bladder carcinoma

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2010-10-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 古瀬, 洋 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1961

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 470号	学位授与年月日	平成21年10月16日
氏名	古瀬 洋		
論文題目	Significance of 5-fluorouracil-related enzyme activities in predicting sensitivity to 5-fluorouracil in bladder carcinoma (膀胱癌の5-FU感受性予測における5-FU代謝関連酵素活性の意義)		

博士(医学) 古瀬 洋

論文題目

Significance of 5-fluorouracil-related enzyme activities in predicting sensitivity to 5-fluorouracil in bladder carcinoma

(膀胱癌の 5-FU 感受性予測における 5-FU 代謝関連酵素活性の意義)

論文の内容の要旨

[はじめに]

膀胱癌の薬物治療は、筋層非浸潤性癌に対しては MMC あるいは Anthracycline 系の抗癌剤や BCG の膀胱内注療法が、筋層浸潤性癌に対しては CDDP を基本とした化学療法が行われる。しかし、これらの薬物治療が、超高齢、PS 不良、合併症あるいは副作用などのために実施し得ない症例では、5-FU 関連薬剤がしばしば投与されるが、膀胱癌における 5-FU 関連薬剤の効果予測因子に関する研究は少ない。

一方、他の癌種では、5-FU が抗腫瘍効果を発揮するためのリン酸化に関与する orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) や thymidine phosphorylase (TdR-Pase) 、さらに 5-FU の分解酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) などの 5-FU 代謝関連酵素活性測定を利用した 5-FU 感受性予測が汎用されている。また、5-FU の抗腫瘍効果の増強に関する研究では、これらの酵素活性値比を測定することで 5-FU 感受性のより高い症例を選別し、さらには DPD 阻害剤の 5-chloro-2,4-dihydropyrimidine (CDHP) を添加して 5-FU 感受性の増強効果が検討されているが、膀胱癌領域においては、これらの点についてもほとんど検討されていない。

以上の背景に基づいて、今回、膀胱癌症例の 5-FU 感受性予測における癌組織内の 5-FU 代謝関連酵素活性の有用性を検討した。さらに、5-FU 感受性の高い症例を選別する手段としての酵素活性値比の有用性や、CDHP を用いた 5-FU の抗腫瘍効果の増強作用についても検討した。

[対象と方法]

1996 年 6 月から 2004 年 7 月までに、膀胱癌の診断で浜松医科大学医学部附属病院泌尿器科および関連施設で膀胱全摘除術あるいは経尿道的生検を施行した 127 例より腫瘍組織を採取した。また、膀胱全摘除術を施行した症例中、42 例では膀胱の正常組織も同時に採取した。OPRT 活性値は paper disc 法、TdR-Pase 活性値と DPD 活性値は ELISA 法を用いて、腫瘍部では各 54 例、102 例、43 例で、正常部では各 19 例、39 例、27 例で測定した。膀胱癌組織の *in vitro* での 5-FU 感受性は、histoculture drug response assay 法を用いて 99 例で検討した。統計学的検討は、癌と正常組織間での各酵素活性値の差異は Mann-Whitney test で、正常組織に対する異型度別、深達度別の各酵素活性値の差異は Kruskal-Wallis test と Scheffe test で、さらに各酵素活性値と 5-FU 感受性との関連は Spearman's rank correlation test で行った。なお、本研究の実施に際しては、各施設の倫理委員会で承認され、全症例でインフォームドコンセントを得た。

[結果]

腫瘍組織の OPRT、TdR-Pase、DPD 活性値は、いずれも正常組織より有意に高値であった。OPRT 活性値は、腫瘍の異型度、深達度とも関連を認めなかったが、TdR-Pase 活性値は、異型度が Grade (G) 3 の組織では正常部および G1-2 の組織に比べて有意に高値であり、筋層浸潤性癌

組織では正常部および非筋層浸潤性癌組織に比べて有意に高値であった。一方、膀胱腫瘍組織の OPRT 活性値と *in vitro* での 5-FU 感受性の間には有意な正の相関を認め、DPD 活性値と 5-FU 感受性の間には有意な負の相関を認めたが、TdR-Pase 活性値と 5-FU 感受性とは相関しなかった。さらに、5-FU 感受性増強に関する検討では、OPRT/DPD 活性値比が OPRT 活性値単独よりも 5-FU 感受性とより強い相関を示した。5-FU に CDHP を添加した場合、特に DPD 活性値が高い症例において膀胱腫瘍組織の 5-FU 感受性が有意に上昇する結果が得られた。

[考察]

癌細胞の約 80% では、その病理組織学的背景に関係なく OPRT を介して細胞内に取り込まれた 5-FU のリン酸化が進むことが実験的に確かめられており、臨床的にも消化器癌などでは OPRT が 5-FU 感受性を規定する重要な因子であると報告されている。同様に、今回の膀胱癌における検討でも、腫瘍組織の 5-FU 感受性予測に関して OPRT が最も重要な酵素であることが示唆された。一方で TdR-Pase は、血小板由来血管内皮細胞増殖因子と同一で、血管新生作用を有しており、腫瘍内の TdR-Pase 活性が高いことはその腫瘍自身の悪性度を反映すると推察される。事実、腫瘍の異型度や深達度と酵素活性値との関係をみた場合、OPRT と異なり、TdR-Pase では悪性度が高くなるにつれて有意に活性値が上昇した。したがって、TdR-Pase は膀胱癌において 5-FU 感受性を予測するよりも、癌の malignant potential を予測する因子のひとつであることが示唆された。

膀胱癌における 5-FU 感受性増強に関する検討では、OPRT/DPD 活性値比が OPRT 活性値単独に比してより強い相関で、5-FU 感受性予測が可能であることが確認された。OPRT 活性値が高く DPD 活性値が低い場合、理論的には癌細胞内に 5-FU の活性代謝物質が高い濃度で存在することになり、この結果が得られたものと推察された。また、5-FU に CDHP を添加すると、5-FU の分解が阻害されることにより細胞内に 5-FU が高濃度に維持され、それに伴って 5-FU の活性代謝物質も高濃度に存在することになる。現在、5-FU のプロドラッグである tegafur に CDHP、oteracil potassium を配合した S-1 が、胃癌症例などで優れた臨床効果を示し、ヒト胃癌細胞を用いた研究で特に DPD 活性が高い例において DNA 合成阻害、RNA 機能障害をより増強させることが報告されている。今回、膀胱癌の *in vitro* での検討をみる限り、5-FU に CDHP を添加すると DPD 活性が高い例で 5-FU 感受性がより増強されることから、膀胱癌症例においても S-1 に効果を有する症例の存在が示唆された。

[結論]

膀胱癌における 5-FU 感受性予測に最も重要な 5-FU 代謝関連酵素は OPRT であり、また CDHP 添加により DPD 活性が高い症例で 5-FU 感受性が増強された。以上より、膀胱癌に対する 5-FU 関連薬剤を用いた個別化治療の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

膀胱癌に対する薬物治療は原発巣の深達度により異なった治療方法が選択される。すなわち筋層非浸潤癌では膀胱内への薬物注入療法が行われるが、筋層浸潤癌に対しては CDDP を組み込んだ多剤化学療法が施行される。合併症あるいは副作用などのためにこれらの薬物治療が実施し得ない場合には、5-FU 系薬剤が投与されることが多い。5-FU 系薬剤の効果は 5-FU 代謝関

連酵素によって強く影響を受けることが知られているが、膀胱癌における 5-FU 系薬剤の効果予測に関する報告は少ない。5-FU の代謝に関する酵素としては、リン酸化に参与する orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) や thymidine phosphorylase (TdR-Pase) 、さらに 5-FU の分解酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) などが挙げられる。これらの 5-FU 代謝関連酵素活性測定による 5-FU 感受性予測や 5-FU 感受性症例の選別などが種々の癌で行なわれている。さらに DPD 阻害剤の 5-chloro-2, 4-dihydroxypyrimidine (CDHP) を添加することによる 5-FU 感受性の増強効果も検討されている。しかし膀胱癌においては、これらの検討はほとんど報告されていない。そこで申請者は膀胱癌における 5-FU 代謝酵素と効果予測との関連を明らかにする目的で膀胱癌症例における 5-FU 代謝関連酵素値が 5-FU 感受性予測に有用か否かを検討し、さらに CDHP を添加による 5-FU 感受性の増強効果についても検討した。対象は本学附属病院および関連施設で手術を受けた膀胱癌 127 症例で、男女比は 101:26、平均年齢は 67 歳である。OPRT 活性値、TdR-Pase 活性値、DPD 活性値は、癌組織では各々 54、102、43 検体、正常組織では 19、39、27 検体が測定され、以下の結果が得られた。

- ① 腫瘍組織の OPRT、TdR-Pase、DPD 活性値は、いずれも正常組織より有意に高値であった。
- ② OPRT 活性値は、腫瘍の異型度、深達度とも関連を認めなかった。
- ③ TdR-Pase 活性値は、異型度が Grade (G) 3 の組織では正常部および G1-2 の組織に比べて有意に高値であり、筋層浸潤性癌組織では正常部および非筋層浸潤性癌組織に比べて有意に高値であった。
- ④ 膀胱腫瘍組織の OPRT 活性値と *in vitro* での 5-FU 感受性の間には有意な正の相関を認め、DPD 活性値と 5-FU 感受性の間には有意な負の相関を認めたが、TdR-Pase 活性値と 5-FU 感受性とは相関しなかった。
- ⑤ 5-FU 感受性増強に関する検討では、OPRT/DPD 活性値比が OPRT 活性値単独よりも 5-FU 感受性とより強い相関を示した。
- ⑥ 5-FU に CDHP を添加した場合、特に DPD 活性値が高い症例において膀胱腫瘍組織の 5-FU 感受性が有意に上昇した。

このことから申請者は膀胱癌の 5-FU 感受性予測において、腫瘍組織の OPRT が最も重要な酵素であり、TdR-Pase は膀胱癌の悪性度を反映しているものと推論した。さらに OPRT/DPD 活性値比が OPRT 活性値単独よりも 5-FU 感受性と強い相関を示したが、これは OPRT/DPD 活性値比が高い膀胱癌では癌細胞内に 5-FU の活性代謝物質が高濃度で存在するためと推論した。加えて 5-FU に CDHP を添加することにより高 DPD 活性例で 5-FU 感受性が増強されることから、膀胱癌症例においても S-1 が有効となる症例の存在を示唆した。

審査委員会では、申請者が膀胱癌における 5-FU 代謝酵素と効果予測との関連を明らかにし、さらに CDHP 添加した新規 5-FU 系抗癌剤の有用性を示唆したことを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) HDRA の具体的な実施方法について
- 2) HDRA の再現性について
- 3) 抗癌剤感受性試験の臨床応用について
- 4) OPRT 活性値の測定方法について

- 5) TdR-Pase 活性値と悪性度との関連について
- 6) TdR-Pase 活性値と血管新生について
- 7) 3 酵素相互の関連性について
- 8) 3 酵素の測定数が異なる理由について
- 9) 膀胱癌における OPRT 経路の比率について
- 10) 再発症例と OPRT 活性値との関連について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 今野 弘之
副査 梅村 和夫 副査 大西 一功