

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
ファクレジャハニ・エルハム Fakhrejahani Elham	主査 教授 谷川 允彦 副査 教授 樋口 和秀 副査 教授 森 浩志 副査 教授 林 秀行 副査 教授 宮崎 瑞夫
主論文題名 Correlation between thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase mRNA level and in vitro chemosensitivity to 5-fluorouracil, in relation to differentiation in gastric cancer (胃癌組織分化度に関連した thymidylate synthase および dihydropyrimidine dehydrogenase の mRNA レベルと 5-fluorouracil in vitro 感受性の相関関係)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>胃癌治療に広く用いられている抗癌剤 5-fluorouracil (5-FU)に対する耐性獲得における2つの重要なメカニズムは、DNA の de novo 合成に必須の酵素である Thymidylate Synthase (TS) および 5-FU を非活性代謝産物に迅速に分解する酵素である Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) の変化である。一方で、3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2H tetrazolium bromide (MTT)を指標とした Histoculture Drug Response Assay (HDRA) は、in vitro 抗癌剤感受性試験法で、胃癌患者の臨床反応ならびに生存予後に強く相関することが示されている。本研究は、胃癌患者において、腫瘍組織内の DPD および TS の mRNA 発現と、HDRA により判定した5-FU の in vitro 感受性との相関を評価することを目的とした。</p> <p>《対象と方法》</p> <p>87 名の胃癌患者を対象とした。全ての対象患者は手術前に化学療法あるいは放射線療法を受けておらず、文書による説明と同意を得た。新鮮癌組織標本(2-3 mm 角)を 300 µg/ml の 5-FU 存在下に 7 日間培養した。MTT を用いて癌細胞の viability を評価した。培養ウェル内の溶液の吸光度 (540nm)を測定した。阻害率 (IR)は以下の計算式による。</p> $IR (\%) = (1 - \text{薬剤接触群 } 1g \text{ あたりの吸光度} / \text{対照群 } 1g \text{ あたりの吸光度}) \times 100.$ <p>サンプルは直ちに凍結し、-80°C で保存した。Total RNA は acid guanidinium-phenol-chloroform 法により抽出した。RT-PCR はランダムプライミング法で行った。TaqMan® Gene Expression Assay のプライマー・プローベのセットを用いて、fluorescence -based real time detection 法により cDNA の絶対的定量化を行った。GAPDH を内部標準として、目的とする遺伝子の mRNA 発現レベルの相対値を得た。</p> <p>臨床病理学的な因子を参照して、感受性群と耐性群の割合を検討するために Chi-Square test を用いた。TS および DPD の遺伝子発現を臨床病理学的因子と比較検討するため Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests を用いた。</p>	

《結果》

患者は男性 62 名、女性 25 名で、23 ～91 才(平均 65 才)であった。これらの患者から得た 87 サンプルの 5-FU 感受性は、IR 0%～77.5%であった。カットオフ値を IR = 60%とすると、5-FU の有効率は 18.4 % (16/87)であった。サンプルを IR \geq 60 % (感受性群)または IR < 60 % (耐性群)の2グループに分けて検討した。DPD 遺伝子は未分化型で高い発現を示した (P = 0.043)。その他には、遺伝子発現あるいは感受性と臨床病理学的因子の間に有意の相関は認められなかった。分化型癌では耐性群は TS 発現レベルが高く (median, 0.0123 versus 0.0049, P = 0.043)、未分化型癌では DPD レベルは耐性群が感受性群より高かった (median, 0.02 vs. 0.0013)(P = 0.007)。

いずれの組織型でも TS mRNA 発現と in vitro 5-FU 感受性には有意の相関はなかった。DPD と TS の mRNA レベルは、未分化型癌で分化型癌よりも高い相関を示した (R(S) = 0.515 vs. 0.359)。

《考察》

胃癌根治切除術後の治療成績を改善するために補助化学療法が常用されている。しかし、抗癌剤に対する感受性は個々の症例で異なっているため、個別の患者に最適な化学療法を選択するために in vitro 抗癌剤感受性試験が開発され、応用されてきた。特定の抗癌剤に感受性のある患者では、耐性の患者よりも約 7 倍の頻度で化学療法に反応することが既に報告されている。申請者は、未分化型癌においては耐性群で DPD 発現レベルが高いことを示した。これは、胃癌に対する S-1 (5-FU プロドラッグと DPD 阻害剤の合剤)の全国規模の臨床試験における、5-FU 耐性未分化型癌では DPD 含有量が高いという知見とも一致するものである。5-FU 耐性により化学療法が奏効しない患者が治療開始前に同定できるならば、S-1 あるいは新しい TS 阻害剤を組み合わせたレジメを初期治療として考慮することが可能となる。組織型に応じて適切な化学療法を選択するためには今後さらなる臨床的検討を要するが、分化型胃癌と未分化型胃癌では、異なった遺伝子発現が 5-FU 感受性に関与していることを示した本研究の意義は大きい。

《結論》

分化型胃癌と未分化型胃癌では、異なった遺伝子発現が5-FU感受性に関与していることが示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	ファクレジヤハニ・エルハム Fakhrejahani Elham
論文審査担当者		主 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 樋 口 和 秀 副 査 教授 森 浩 志 副 査 教授 林 秀 行 副 査 教授 宮 崎 瑞 夫	
主論文題名 Correlation between thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase mRNA level and in vitro chemosensitivity to 5-fluorouracil, in relation to differentiation in gastric cancer (胃癌組織分化度に関連した thymidylate synthase および dihydropyrimidine dehydrogenase の mRNA レベルと 5-fluorouracil in vitro 感受性の相関関係)			
論 文 審 査 結 果 の 要 旨			
<p>胃癌に対する化学療法の効果は個々の患者により著しく異なる。胃癌患者における抗癌剤 in vitro 感受性試験に基づく化学療法の臨床的有益性が全国調査で示唆されており、抗癌剤 in vitro 感受性試験は厚生労働省により高度先進医療として認可されている。5-fluorouracil (5-FU)は胃癌に対して最も効果のある薬剤のひとつである。申請者は、5-FU代謝に関連した 2つの酵素の mRNA レベルは、抗癌剤 in vitro 感受性が同等であっても、胃癌の組織型によって異なっていることを明らかにしている。本研究において、5-FUに耐性の分化型癌ではThymidylate Synthaseの mRNA レベルが高く、5-FUに耐性の未分化型癌ではDihydropyrimidine Dehydrogenase の mRNA レベルが高いことが示された。すなわち、分化型と未分化型では5-FU耐性に異なった酵素が関与していることになる。従って、個々の胃癌患者に最適な化学療法(いわゆるtailor-made chemotherapy)を提供するためには、Histoculture Drug Response Assay法による抗癌剤 in vitro 感受性試験だけではなく、5-FU代謝に関連した遺伝子学的因子に基づいて化学療法のレジメを選択することが望ましいと考えている。</p> <p>以上より、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Cancer Chemother Pharmacol 60(3): 2007 In Press</p>			