

氏名(本籍)	奥村 憲二(大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第519号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成18年3月24日
学位論文題目	Correlation between chemosensitivity and mRNA expression level of 5-fluorouracil-related metabolic enzymes during liver metastasis of colorectal cancer (大腸癌肝転移に伴う抗癌剤感受性と5-FU関連代謝酵素のmRNA発現の関係)
審査委員	主査 教授 柏木 厚典 副査 教授 岡部 英俊 副査 教授 岡田 裕作

論文内容要旨

※整理番号	524	(ふりがな) 氏名	おくむらけんじ 奥村 憲二
学位論文題目	Correlation between chemosensitivity and mRNA expression level of 5-fluorouracil-related metabolic enzymes during liver metastasis of colorectal cancer. (大腸癌肝転移に伴う抗癌剤感受性と 5-FU 関連代謝酵素の mRNA 発現の関係)		
<p>【研究の目的】浸潤、転移した癌の多くが抗癌剤に耐性を示すことは临床上しばしば経験することである。癌の原発巣は同一であるのに転移巣によって抗癌剤の奏効率が異なったり、原発巣と比較して転移巣では抗癌剤の感受性が異なるという報告はこれまでなされてきた。我々はこれまで行ってきた(1999年～)抗癌剤感受性試験(CD-DST法)のデータから大腸癌原発巣に比較して肝転移巣が有意に 5-FU 耐性であることを報告してきた。今回、大腸癌肝転移に伴う 5-FU 耐性獲得を、原発性大腸癌及び同時性肝転移組織を用いて、5-FU 関連代謝酵素の発現に着目して検討した。更にヒト大腸癌細胞株より、マウス肝転移モデルによる高肝転移株を樹立して同様の検討を行った。</p> <p>【方法】(1)大腸癌原発巣及び同時性肝転移巣切除標本 10 例より collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST)法による 5-FU 感受性を測定した。癌部より RNA を抽出し、real time RT-PCR で 5-FU 関連代謝酵素 DPD、TP、TS、OPRT、UP の mRNA の発現を測定し 5-FU 感受性との比較検討を行った。内部コントロールには G6PDH を用いた。</p> <p>(2)ヌードマウスにヒト由来大腸癌細胞株 HCT116 を同所移植する肝転移モデルを作成して高肝転移株を樹立、CD-DST 法による 5-FU 感受性及び 5-FU 代謝関連酵素の発現を測定し同様に比較検討した。</p> <p>【結果】(1)肝転移巣は原発巣に比べ有意に 5-FU 耐性であった(T/C=88.7% vs 69.7%、$p<0.05$)。DPD mRNA の発現は原発巣 (3.95 ± 0.99) に比較して肝転移巣 (10.36 ± 1.81) で 2.6 倍上昇し ($p<0.01$)、5-FU に対する感受性と負の相関を示した ($R=0.570$, $p<0.05$)。TP mRNA の発現は肝転移巣 (18.80 ± 4.96) において原発巣 (7.28 ± 1.23) と比較し 2.6 倍上昇しており ($p<0.05$)、5-FU に対する感受性と負の相関を示した ($R=0.600$, $p<0.05$)。TS mRNA の発現は 0.98 倍、OPRT mRNA の発現は 0.8 倍と低下していた。UP mRNA の発現は 1.3 倍と上昇していた。しかしいずれも原発巣に比較して肝転移巣では有意な mRNA の発現差は得られず、又 5-FU に対する感受性との相関を示さなかった。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(2)マウスによる肝転移モデルでは肝転移株では親株 HCT116 に比較して 5-FU 感受性が有意に低下し(T/C=92.7~96.2% vs 68%, $p<0.001$)、DPD mRNA の発現が 1.72 倍、TP mRNA の発現が 6.55 倍肝転移を繰り返すに伴い上昇していた。TS mRNA の発現は 0.75 倍肝転移を繰り返すに伴い低下していた。OPRT、UP mRNA の発現は各々 2.08 倍、1.25 倍上昇していた。

【考察】癌は heterogeneous であり、癌組織における一部の細胞が浸潤、転移といった事象を引き起こすことがいわれている。即ち、元来同じ細胞集団であるはずの癌組織から浸潤、転移した癌細胞は元来の細胞集団とは異なるということになる。抗癌剤感受性に関して、転移した癌組織と原発巣での感受性は異なるということが報告されてきた。又、抗癌剤 5-FU に対する関連代謝酵素の研究が進み、これらの酵素の発現の多寡により、5-FU に対する感受性が予測できる、もしくは関連があるということが言われてきた。最近になり原発巣と転移巣で 5-FU 関連代謝酵素の発現が異なることが示された。今回、我々は当教室内で行われていた抗癌剤感受性試験(CD-DST 法)により大腸癌に比較して肝転移巣が 5-FU に対して耐性を示すというデータをもとに、浸潤、転移に伴う抗癌剤の感受性変化の事象を解明すべく、大腸癌原発巣及び同時性肝転移巣の 5-FU 関連代謝酵素の mRNA の発現を測定し、感受性との比較検討を行ったが、DPD と TP という 2 つの酵素がこれらの事象に関連している可能性が示唆された。これはマウスによる肝転移モデルにおいても同様の所見であった。又最新の知見で side population cell(SP 細胞)といわれる細胞が抗癌剤耐性や転移を引き起こす cancer stem cell であるということが言われており、今回樹立した肝転移株を使って今後 SP 細胞の機能解析を行う必要があると考えている。

【結論】大腸癌原発巣と肝転移巣の 5-FU 感受性と DPD、TP の mRNA の変化は負の相関を示し、転移における 5-FU 耐性獲得の原因の 1 つに DPD、TP の発現亢進が示唆された。今回樹立した高肝転移株は臨床例の解析結果と類似しており、転移における 5-FU 耐性獲得を解析するモデルに成り得ると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	524	氏名	奥村 憲二
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>肝転移大腸癌細胞の 5-FU (fluorouracil) 耐性獲得機構を、原発性大腸癌および同時肝転移癌細胞の 5-FU 代謝関連酵素発現との関連について検討した。10 例より原発および転移巣切除標本の 5-FU 感受性を CD-DST 法により測定した。更に、原発および転移巣より RNA を抽出し、real time PCR で 5-FU 代謝関連酵素群の mRNA を定量し、5-FU 感受性との関連を比較した。更に、ヒト由来大腸癌細胞株 HCT116 をヌードマウスに移植し、原発巣と肝転移巣について同様な比較を行った。</p> <p>その結果、(1) 肝転移巣は原発巣に比べて有意に 5-FU 耐性であった。5-FU の主要な代謝経路酵素である DPD や TP の mRNA 発現量は原発巣に比較して、肝転移巣で増加し、5-FU に対する感受性と負の相関をした。(2) ニードマウスによる肝転移モデルでも、親株に比較して肝転移巣の 5-FU 感受性は有意に低下し、DPD および TP の mRNA 発現量が共に増加した。</p> <p>本論文は、大腸癌肝転移巣に対する 5-FU 耐性機構を 5-FU 代謝関連酵素 DPD および TP の発現量から説明したもので、転移巣に対する癌化学療法の有用性を高める上で示唆に富む研究であり、博士(医学)の学位授与に値するものと評価された。</p>			
(平成 18 年 2 月 1 日)			