

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09090

研究課題名(和文) 乳癌における5FU作用機序の違いによる耐性機序の違いとその克服

研究課題名(英文) The study for the mechanism of 5FU-resistance based on the metabolism of 5FU in breast cancer cells

研究代表者

森 龍太郎 (mori, ryutaro)

岐阜大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00738635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌治療における5FU製剤は重要性が増してきていることから5FU耐性乳癌細胞株を使用して5FU耐性機序を5FU代謝に注目して検討した。5FUが活性体Fluoro-uridine monophosphate(FdUMP)へ変換される経路は細胞株によって異なり5FU耐性獲得に伴っても変化した。とくに注目すべき発見は、5FU耐性株において5FUにThymidine phosphorylase阻害薬であるTipiracilを併用すると5FU耐性が解除されることで、Tipiracilはすでに臨床で使用されている薬剤であることから5FUとTipiracilの併用療法は有望な治療と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

5FU製剤は乳癌をはじめ様々な癌の治療で使用されており5FUの獲得耐性が問題となっている。今回の研究では5FU耐性はTipiracilを併用することにより克服できることが明らかになり、またTipiracilはすでに臨床で使用されている薬剤であり安全性が確認されていることから、5FUとTipiracilの併用療法が癌治療の発展に貢献すると考える。

研究成果の概要(英文)：The importance of 5FU in the treatment of breast cancer has been increasing recently. Therefore, we investigated the mechanism underlying the resistance to 5FU, focusing on the changes in the 5FU metabolism using breast cancer cell lines, and found that in 5FU-resistant cells, the metabolism of 5FU changed to decrease the intracellular levels of fluoro-uridine monophosphate (FdUMP), which is the active metabolite of 5FU, and to increase the synthesis of thymidylate. We also found that the resistance to 5FU in 5FU-resistant cells was reversed by the inhibition of TP by tipiracil. Tipiracil is a component of TAS-102, the anti-cancer drug for metastatic colorectal and gastric cancer and has been already used in clinical practice. Therefore, combination therapy with 5FU and tipiracil would be easy to incorporate, and we believe it will be a promising therapy for breast cancer.

研究分野：腫瘍外科

キーワード：乳癌 5FU 耐性 Thymidine phosphorylase

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

5FU 製剤には Capecitabine や S-1 があり、近年の乳癌治療において、術前化学療法後の患者に対する術後の Capecitabine 投与(Create-X 試験)、進行乳癌に対する First-line として S-1 の投与(SELECT BC 試験)、術後補助療法として S-1 投与(POTENT 試験)の有効性が証明されたことから、乳癌においても 5FU 製剤の重要性が増してきている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、5FU 耐性獲得に伴う 5FU 活性体の生成低下と分解亢進を明らかにすることにより 5FU 耐性メカニズムを解明することである。また、5FU 耐性獲得に伴い活性体が減少した状態をもとに戻す方法を検討し、5FU 獲得耐性を解除することである。

3. 研究の方法

(1) 使用する乳癌細胞株 (5FU 耐性株は当教室で樹立)

- ・ MCF7、その 5FU 耐性株 MCF7/5FUR (ホルモン受容体陽性、HER2 陰性)
- ・ MDAMB231、その 5FU 耐性株 MDAMB231/5FUR (ホルモン受容体陰性、HER2 陰性)

(2) 使用する薬剤

- ・ 抗癌剤として、5FU、Fluoro-deoxyuridine (FdU)
- ・ Ribonucleotide reductase (RR) 阻害薬として Hydroxyurea、TP 阻害薬として Tipiracil、TMP kinase 阻害薬として YMU1
- ・ 阻害薬が入手できない酵素については siRNA で Knock down する。

(3) FdUMP の測定

細胞株を 5FU で処理した後、Western blot で Thymidylate synthase (TS) を測定すると、FdUMP、活性葉酸、TS が結合した三量体が Upper band として描出され、FdUMP 濃度と相関する (Anticancer Drugs, 1993;4:431-5.)。これで FdUMP 濃度測定を代用する。

(4) MTT assay により 5FU 細胞障害性の変化を測定

5FU 代謝酵素を阻害することにより生じた 5FU 感受性・抵抗性の変化を MTT assay により測定する

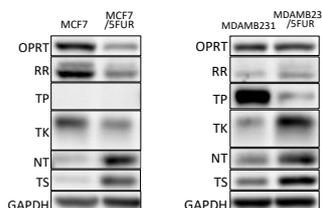
(5) メタボローム解析によるヌクレオチド代謝産物の測定

5FU 耐性獲得に伴い生じる細胞内のヌクレオチド代謝産物生成量の変化を外注にて測定する。

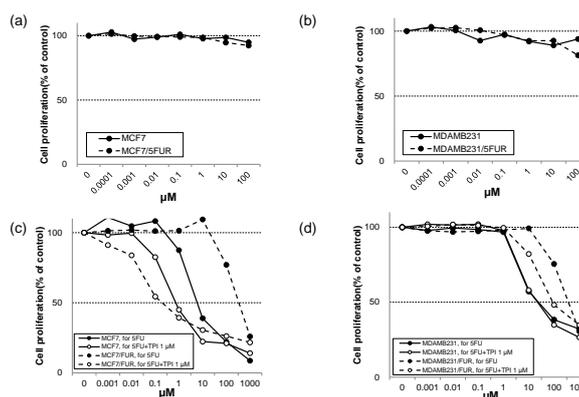
4. 研究成果

(1) 5FU 代謝酵素の変化

MCF7/5FUR は MCF7 と比較し OPRT 低発現、TK 低発現であった。一方 MDAMB231/5FUR は MDAMB231 と比較し TP 低発現、TK 高発現であった。

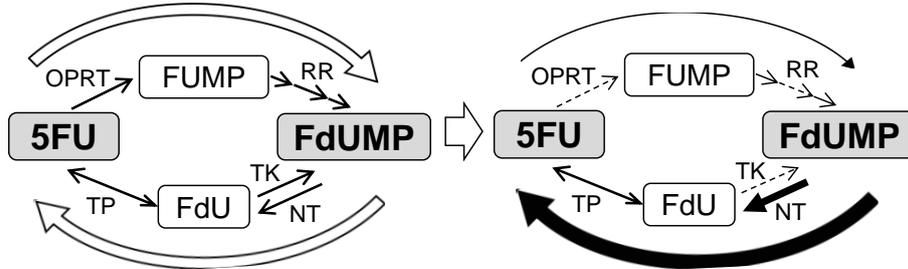


(2) TP 阻害薬による 5FU 耐性の解除
TP 阻害薬そのものは細胞障害性を示さなかったにもかかわらず、両 5FU 耐性株において、5FU に TP 阻害薬である Tipiracil を併用すると 5FU 耐性が解除された。

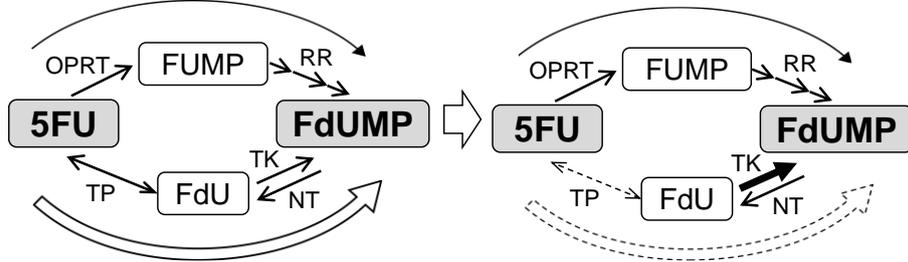


(3) 両細胞における 5FU 代謝の変化

MCF7/5FUR は 5FU 耐性に伴って FdUMP の分解が更新したと考えられた。



MDAMB231/5FUR は 5FU 耐性に伴い TP、TK を経由する FdUMP の生成が消失したと考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suetsugu T, Mori R, Futamura M, Fukada M, Tanaka H, Yasufuku I, Sato Y, Iwata Y, Imai T, Imai H, Tanaka Y, Okumura N, Matsuhashi N, Takahashi T, Yoshida K.	4. 巻 45
2. 論文標題 Mechanism of acquired 5FU resistance and strategy for overcoming 5FU resistance focusing on 5FU metabolism in colon cancer cell lines.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncol Rep.	6. 最初と最後の頁 27-27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/or.2021.7978.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森龍太郎、二村学、中神光、浅野好美、吉田和弘
2. 発表標題 The mechanism of acquired 5FU-resistance differs according to the different metabolism of 5FU in breast cancer cells
3. 学会等名 第54回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------