

令和元年5月13日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10496

研究課題名(和文) 数理情報解析システムを用いたドラッグ・リポジショニングによる5-FU耐性機序解明

研究課題名(英文) The study for overcoming 5FU-resistance using drug repositioning based on mathematical information analysis

研究代表者

森 龍太郎 (mori, ryutaro)

岐阜大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：00738635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：胃癌細胞MKN45および5FU耐性株MKN45/F2Rにおいて、5FU代謝に着目して5FU耐性メカニズムを解析したところ、5FUはすべてOrotate phosphoribosyl transferase (OPRT)経由で代謝されて活性体Fluoro-deoxyuridine monophosphate (FdUMP)となり、5FU耐性株はThymidine phosphorylase (TP)によりFdUMPを分解して5FU耐性を獲得していることを見出した。5FUにTP阻害薬を併用すると5FU耐性がほぼ完全に解除されたことから、5FUとTP阻害薬の併用は臨床応用が期待されると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌および消化器癌の治療において5FUはキードラッグであり、5FU耐性メカニズムの解明とその克服は重要な課題である。本研究では、メタボローム解析を用いて5FU耐性とメタボロームの関係を初めて明らかにしたものである。また、5FU獲得耐性において、その活性体がヌクレオチド代謝酵素Thymidine phosphorylase (TP)により解毒されていることを見出し、TP阻害薬と5FUの併用で5FU獲得耐性が解除されることを証明した。これらの知見から、5FU耐性克服メカニズムを組み込んだ薬剤の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the mechanism underlying 5FU-resistance, focusing on the 5FU metabolisms, and found that fluoro-deoxyuridine monophosphate (FdUMP), which was active metabolite of 5FU, was synthesized from 5FU only through the orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) pathway. Moreover, in 5FU-resistant MKN45/F2R cells, the inhibition of thymidine phosphorylase (TP) reversed the resistance to 5FU. These results suggested that combination of 5FU and TPI is a promising cancer therapy.

研究分野：分子生物学

キーワード：5FU耐性 ヌクレオチド代謝 Thymidine phosphorylase

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

cDNA microarray などの網羅的解析は、一度に多数の発現を解析できるが、その結果に基づいて、薬剤耐性の克服が成し遂げられた研究はいまだに存在しない。

2. 研究の目的

当研究の目的は、抗癌剤 5FU の耐性機序を網羅的解析から解明し、克服することである。

3. 研究の方法

(1) 胃癌細胞株 MKN45 および当教室で作成した 5FU 耐性株 MKN45/F2R について、定常状態および 5FU 処理後の検体を作成し、cDNA microarray で網羅的解析を行う。

(2) 上記同様に胃癌細胞株 MKN45 および MKN45/F2R の検体を作成し、網羅的メタボローム解析を行う。

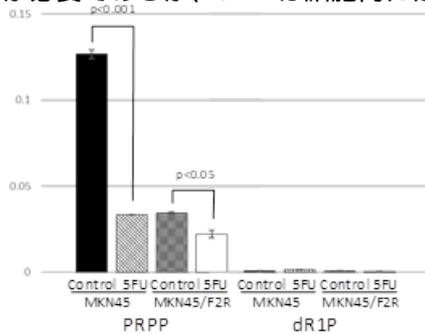
(3) 上記網羅的解析の結果を吟味し、薬剤耐性にかかわる分子を抽出する。候補となった分子やメタボロームと 5FU 耐性の関連を Western blot や MTT assay を用いて検討し、5FU 耐性メカニズムおよび耐性克服の方法を検討する。

4. 研究成果

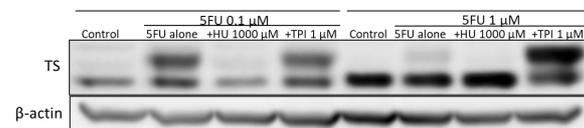
(1) cDNA microarray では 40304 の遺伝子発現が解析対象となり、網羅的メタボローム解析では 226 の代謝物質が解析対象となった

(2) 上記解析結果から、5FU 作用メカニズムや 5FU 耐性メカニズムに関連すると考えられたものは、メタボローム解析により得られた、ヌクレオチド代謝関連分子である。

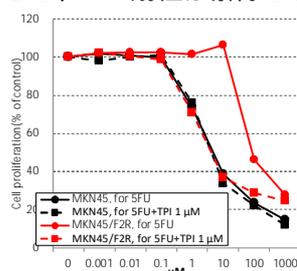
5FU はヌクレオチド代謝により活性化されるが、その経路には 2 経路が想定されていて、(Orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) を経由する経路と Thymidine phosphorylase (TP) を経由する経路がある。5FU がこれらの経路で代謝されるためには、メタボロームが必要であり、には Phosphoribosyl pyrophosphate (PRPP)、には Deoxyribose 1-phosphate (dR1P) が必要であるが、dR1P は細胞内にはほとんど存在しなかった。



(3) 上記結果から、5FU はほぼすべて OPRT 経路で代謝されていることが示唆された。5FU の代謝産物 Fluoro-deoxyuridine monophosphate (FdUMP) は Western blot で TS を見たときの Upper band として測定できるため、阻害薬を併用して、FdUMP の変化をみると、OPRT 経路の阻害薬である Hydroxyurea (HU) を併用した場合には FdUMP が減少するが、TP を阻害した場合には FdUMP は減少せず、5FU 耐性株ではむしろ増加することを発見した。



(4) 5FU 耐性株において 5FU と TP 阻害薬を併用すると、FdUMP が増加することは、5FU 耐性株において FdUMP は TP 経路で分解されていることを示唆し、実際に、5FU に TP 阻害薬を併用すると、5FU 耐性が解除されることを見出した。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

1. Mori R, Futamura M, Tanahashi T, Tanaka Y, Matsuhashi N, Yamaguchi K, Yoshida K.
The inhibition of thymidine phosphorylase can reverse acquired 5FU-resistance in gastric cancer cells.
Gastric Cancer. 2018;doi: 10.1007/s10120-018-0881-3. 査読有り
2. Mori R, Yoshida K, Futamura M, Suetsugu T, Shizu K, Tanahashi T, Tanaka Y, Matsuhashi N, Yamaguchi K
5FU resistance caused by reduced fluoro-deoxyuridine monophosphate and its reversal using deoxyuridine.
Oncol Lett. 2017;14:3162-3168. doi: 10.1186/s12957-018-1472-9. 査読有り

[学会発表](計12件)

1. 発表者名: Ryutaro Mori, Tomonari Suetsugu, Toshiyuki Tanahashi, , Kazuya Yamaguchi, Manabu Futamura, Kazuhiro Yoshida
発表課題: Reversal of 5FU-resistance by the inhibition of thymidine phosphorylase in gastric cancer cells
学会等名: 第56回日本癌治療学会学術集会
発表年月日: 2018/10/18-2018/10/20
発表場所: パシフィコ横浜
2. 発表者名: 森龍太郎、末次智成、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘
発表課題: Thymidine phosphorylase(TP)による5FU耐性とTP阻害薬による5FU耐性解除
学会等名: 第73回日本消化器外科学会総会
発表年月日: 2018/7/11-2018/7/13
発表場所: 城山ホテル鹿児島
3. 発表者名: 森龍太郎、末次智成、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘
発表課題: Thymidine phosphorylase 阻害による5FU耐性解除
学会等名: 第39回癌免疫外科学研究会
発表年月日: 2018/5/17-2018/5/18
発表場所: 岐阜都ホテル
4. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘
発表課題: Thymidine phosphorylase 阻害による5FU耐性解除
学会等名: 第118回日本外科学会定期学術集会
発表年月日: 2018/4/5-2018/4/7
発表場所: 東京国際フォーラム
5. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘
発表課題: ヌクレオチド代謝に着目した5FU耐性メカニズムの解明
学会等名: 第55回日本癌治療学会学術集会
発表年月日: 2017/10/20-2017/10/22
発表場所: パシフィコ横浜
6. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、山口和也、吉田和弘
発表課題: Analysis for the mechanism of 5FU resistance focusing on the amount of fluoro-deoxyuridine monophosphate (FdUMP).
学会等名: 第72回日本消化器外科学会総会
発表年月日: 2017/7/20-2017/7/22
発表場所: 金沢駅もてなしドーム・ホテル日航金沢・ANAクラウンプラザホテル金沢
7. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘
発表課題: Nucleotidase による5FU耐性
学会等名: 第117回日本外科学会定期学術集会
発表年月日: 2017/4/27-2017/4/29
発表場所: パシフィコ横浜

8. 発表者名: Ryutaro Mori, Toshiyuki Tanahashi, Kazuya Yamaguchi, Kazuhiro Yoshida
発表課題: 5FU-resistance caused by reduced FdUMP, and its reversal using deoxyuridine
学会等名: 第 89 回日本胃癌学会総会
発表年月日: 2017/3/8-2017/3/10
発表場所: 広島国際会議場
9. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘、
発表課題: FdUMP の解毒による 5FU 耐性と deoxyuridine による耐性解除
学会等名: 第 54 回日本癌治療学会学術集会
発表年月日: 2016/10/20-2016/10/22
発表場所: パシフィコ横浜
10. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、山口和也、二村 学、吉田和弘
発表課題: FdUMP の解毒による 5FU 耐性
学会等名: 第 27 回日本消化器癌発生学会総会
発表年月日: 2016/9/15-2016/9/16
発表場所: 城山観光ホテル
11. 発表者名: 森龍太郎、棚橋利行、奥村直樹、山口和也、吉田和弘
発表課題: 5FU 耐性胃癌細胞株に対する dUMP の耐性減弱作用
学会等名: 第 71 回日本消化器外科学会総会
発表年月日: 2016/7/14-2016/7/16
発表場所: あわぎんホール、アスティ徳島
12. 発表者名: 森龍太郎、土屋 博、棚橋利行、奥村直樹、山口和也、吉田和弘
発表課題: 5FU 耐性胃癌細胞株に対する dUMP の耐性減弱作用
学会等名: 第 116 回日本外科学会定期学術集会
発表年月日: 2016/4/14-2016/4/16
発表場所: 大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル大阪

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 吉田 和弘

ローマ字氏名: Yoshida Kazuhiro

所属研究機関名: 岐阜大学

部局名: 大学院医学系研究科

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 50230727

研究分担者氏名: 二村 学

ローマ字氏名: Futamura Manabu

所属研究機関名: 岐阜大学

部局名: 大学院医学系研究科

職名: 准教授

研究者番号 (8 桁): 10415515

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田島 ジェシー雄

ローマ字氏名：Tajima Jesse Yu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。