

機関番号：17102
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20592021
 研究課題名 (和文) 核酸代謝酵素をターゲットとしたオーダーメイド頭頸部放射線化学療法の基礎研究
 研究課題名 (英文) The role of Thymidylate Synthase (TS) and Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) expression in 5-FU based chemoradiation for head and neck cancer
 研究代表者
 中島 寅彦 (NAKASHIMA TORAHIKO)
 九州大学・大学病院・講師
 研究者番号：00284505

研究成果の概要 (和文)：

5-FU を用いた頭頸部癌放射線化学療法の感受性を、核酸代謝酵素である Thymidylate Synthase (TS) と Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) の腫瘍組織内発現レベルにて予測できないかを検討した。In vitro 実験において TS 発現が低いほど、DPD 発現が低いほど頭頸部癌細胞は 5-FU 感受性が高いことがわかった。

また、臨床検体を用いた研究で舌癌、上顎癌症例において TS 発現は予後不良因子であり 5-FU を用いた放射線化学療法の感受性も低いことを報告した。

研究成果の概要 (英文)：

Thymidylate Synthase (TS) and Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) are key enzymes for 5-FU metabolism. The relationship between the expression of TS/DPD and 5-FU sensitivity in head and neck squamous carcinoma (HNSCC) cells was analyzed in vitro.

Increasing the expression of TS or DPD decreased the cytotoxicity of 5-FU against HNSCC cells.

Clinico-pathological analysis was also performed utilizing specimens from oral cancer and maxillary sinus cancer. There was a correlation between high TS expression and poor prognosis of the patients. Assessment of TS /DPD activity may be useful in predicting the effect and prognosis of HNSCC patients who are receiving 5-FU based chemo(radio)therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：頭頸部癌、放射線化学療法、核酸代謝酵素

1. 研究開始当初の背景

癌の治療現場では治癒率、生存率の向上とともに治療後の臓器機能温存率の向上を目指すことが患者の QOL の維持の観点から近

年重視されてきている。頭頸部癌に対して放射線化学療法が臓器温存率、生存率の向上に有効であり、それは放射線単独療法よりも勝る、とのエビデンスはすでに諸家の報告によ

り確立している。1990 年以降欧米において多くの meta-analysis が行われ、その結果としてシスプラチンを含む化学療法との同時併用放射線療法が最も有効であり、さらに 5-FU を併用したレジメンが有効であるとの報告が多い。最近ではドセタキセルの併用も注目されている。しかしながら、有効なレジメンほど副作用も著明でありスタンダードなレジメンは確立されていない。併用抗癌剤の選択にあたっては、薬剤自体が強い抗腫瘍効果を有し、強い放射線増感作用があること、低い毒性をもつことが必要であり、さまざまな組み合わせにより臨床研究が行われている。

当科では以前からフッ化ピリミジン系抗癌剤（1972-1999:5-FU ,2000 以降:TS-1）併用の放射線化学療法を頭頸部癌治療に用いており、喉頭癌、下咽頭癌の臓器温存を向上させて来た。

その基本理念として局所進行癌であっても放射線化学療法による臓器温存を優先させるが、手術が必要な場合は遅滞なく手術もできるよう最小限の副作用で照射を行いたいという考えから 5-FU/TS-1 を併用している。T4 喉頭癌、下咽頭癌でも非常に高い効果が得られ、臓器温存が可能な症例もあるものの、T4 症例の喉頭温存率は他施設から報告される CDDP/5-FU 併用の放射線療法に比し低く、治療開始前に症例の 5-FU/TS-1 感受性が予測できないか、その予測方法の確立は当教室の以前からのテーマであった。

癌細胞の 5-FU 感受性を規定する因子としては、フッ化ピリミジン系抗癌剤代謝の key enzyme である thymidilate synthase (TS) と Dihydro Pyrimidine Dehydrogenase (DPD) が従来注目されており、臨床研究で頭頸部癌、胃癌、乳癌などにてその mRNA, タンパク発現と薬剤感受性の相関を調べた報告は多い。

しかしながら、癌細胞を TS,DPD cDNA にて形質転換し、その表現型を解析、さらに 5-FU 系抗癌剤と放射線を組み合わせた放射線化学療法を行いその効果をみた研究は皆無である。

2. 研究の目的

- (I) 頭頸部癌細胞を用いて TS, DPD の発現のみを変化させ、その結果癌細胞の 5FU/TS-1 感受性、ならびに 5FU/TS-1 併用の放射線治療感受性を in vitro, in vivo にて検証する。
- (II) I によって得られた発現パターンと治療感受性の相関のデータを臨床検体にて解析し、実際の治療効果と比較する。

3. 研究の方法

i) in vitro

- ① 発現ベクターに TS および DPD の cDNA をサブクローンし、頭頸部扁平上皮癌由来の培養細胞を形質転換する。
- ② in vitro での増殖能、細胞周期の変化を解析後、MTT アッセイにて 5FU 感受性を解析する。さらにギメラシル (DPD 阻害剤) 添加後の変化についても解析する。

ii) 臨床研究

頭頸部癌組織における核酸代謝酵素発現と 5FU/TS-1 併用放射線治療効果の関係

基礎研究から得られる TS,DPD 発現パターンは TS:高発現、低発現、DPD:高発現、低発現の組み合わせからなる 4 パターンである。In vitro の基礎研究から得られたデータと実際の臨床検体を用いたデータが相関するか検証する。

4. 研究成果

In vitro 研究

頭頸部癌細胞株に DPD の cDNA、antisense TS cDNA を発現ベクター pcDNA3 に

サブクローン下した後、リポフェクション法にて遺伝子導入した。得られた形質転換株の細胞増殖能を解析した後、5-FU 感受性について MTT アッセイ法にて解析を行った。

DPD 高発現株はコントロールに比し細胞増殖能に変化はなかったが 5-FU 感受性が低下していた。また antisense TS 導入株においては、細胞増殖能がコントロール株に比し低下しており、5-FU 感受性は亢進していた。

以上の結果から DPD 発現が低いほど、TS 発現が低いほど頭頸部癌細胞の 5-FU 感受性は高いといえることができる。また DPD 発現は癌細胞増殖能に影響しないが TS 発現は細胞増殖能に影響することがわかった。

臨床検体を用いた研究

頭頸部癌（舌癌、上顎癌）症例の組織サンプルにおける DPD, TS の mRNA 発現レベルを検討し、当科で行っているフッ化ピリミジン系抗癌剤を用いた放射線化学療法も含めた集学的治療による治療効果、予後も含めた臨床病理学的因子との間での解析を行った。その結果、DPD, TS は正常の舌組織に比し舌癌腫瘍組織での発現が有意に高いこと、舌癌組織の DPD, TS 発現レベルは患者の臨床病期、腫瘍の病理学的分化度、頸部リンパ節転移の有無とは相関がないことがわかった。

また、舌癌患者、上顎癌患者の予後に腫瘍の TS 発現レベルの高さが有意に相関している（癌における TS レベルが高いほど予後不良）である

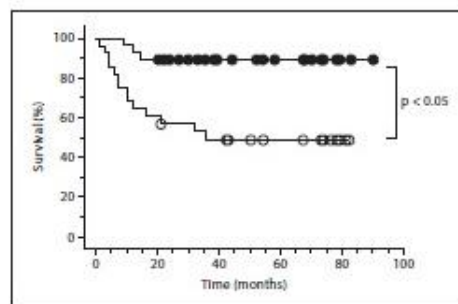


Fig. 5. Kaplan-Meier plot for TS expression in relation to the overall survival period for 56 HNSCC cases. The TS negative group had a significantly better survival than the TS positive group. * $p < 0.05$. ● = TS-negative group; ○ = TS-positive group.

ことが臨床検体を用いた解析からわかり、*in vitro* における研究結果との一致をみた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 6 件）

Yasumatsu R, Nakashima T, et al. The role of dihydropyrimidine dehydrogenase expression in resistance to 5-fluorouracil in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Oral Oncology* 45 141-147, 2009

Yasumatsu R, Nakashima T, et al. Correlations between thymidylate synthase expression and chemosensitivity to 5-fluorouracil, cell proliferation and clinical outcome in head and neck squamous cell carcinoma. *Chemotherapy* 55 36-41, 2009

中島寅彦 頭頸部癌放射線化学療法 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 81 441-447, 2009

Yasumatsu R, Nakashima T, et al. Relative level of thymidylate synthase mRNA expression in primary tumors and normal tissues predicts survival of patients with oral tongue squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otolaryngol* 267 581-586, 2010

中島寅彦、中村和正、白土秀樹、安松隆治他 早期舌癌に対する手術療法の治療成績－放射線治療との比較－日耳鼻 113:456-462, 2010

Yasumatsu R, Nakashima T, et al. Thymidylate synthase expression as a predictor of clinical response to 5-fluorouracil-based

chemoradiotherapy in patients with maxillary sinus squamous cell carcinoma. Auris Nasus Larynx in press 2010

[学会発表] (計6件)

1. 安松隆治、中島寅彦 他 頭頸部扁平上皮癌における Thymidilate synthase 発現とその役割について 第46回日本癌治療学会総会 2008年10月
2. 安松隆治、中島寅彦 他 ピリミジン系代謝酵素をターゲットとした頭頸部癌治療に関する基礎的臨床的検討 日本耳鼻咽喉科学会総会 2009年5月 東京
3. Torahiko Nakashima, Hideki Shiratsuchi, Ryuji Yasumatsu, Shizuo Komune Concurrent chemoradiotherapy with intraarterial CDDP/DOC and S-1 American Academy of Otolaryngology, HNS 2009 (Sept30-Oct4 2009 SanDiego)
4. Ryuji Yasumatsu, Torahiko Nakashima, Shizuo Komune Thymidilate synthase expression as a predictor of clinical response to 5-fluorouracil-based chemoradiotherapy in patients with maxillary sinus squamous cell carcinoma. 4th World congress of International Federation of Head and Neck Oncologic Societies (June 15-19 2010 Seoul Korea)
5. Torahiko Nakashima, Ryuji Yasumatsu, Yoshiyuki Shioyama, Takeshi Kamitani, Shizuo Komune Treatment Outcome of Concurrent Chemoradiotherapy with Intraarterial CDDP/DOC and Oral S-1 for Advanced Head and Neck Cancer AAO-HNSF 2010 Research Workshop(Oct 28-30 2010, Arlington USA)
6. Ryuji Yasumatsu, Torahiko Nakashima,

Shizuo Komune. Thymidilate synthase expression as a predictor of clinical response to 5-FU-based chemotherapy in patients with maxillary sinus SCC AAO-HNSF 2010 Research Workshop(Oct 28-30 2010, Arlington USA)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

http://www.c-shop.net/kyudai_jibi/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 寅彦 fiA4>4F; <@4 GBE4; <>B
九州大学・大学病院・講師

研究者番号：
00284505

(2) 研究分担者

安松 隆治 (YASUMATSU RYUJI)
九州大学・医学研究院・研究員

研究者番号：
00444787

(3) 連携研究者

なし