

主論文の要旨

**Pre-exposure to Fluorouracil Increased
Trifluridine Incorporation and Enhanced its
Anti-tumor Effect for Colorectal Cancer**

Fluorouracil の前治療は Trifluridine の取り込みを増やし
大腸癌に対する抗腫瘍効果を増強する

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

馬場 泰輔

【背景】

Trifluridine/tipiracil (FTD/TPI)は再発大腸癌に対する3次治療以降に使用される抗癌剤の1つである。このため、FTD/TPIによる治療時に対象となる大腸癌の多くは、すでに行われたFluorouracil (5-FU)治療による影響を受けていると考えられる。

しかし、5-FUによる前治療がFTD/TPIの治療効果にどのような影響を与えているかについては十分に明らかになっていない。

本研究では、5-FU前治療によるFTDの抗腫瘍効果への影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

ヒト大腸癌細胞株 DLD-1, ヒト膵癌細胞株 PANC-1, KLM-1 に対して、未治療群、FTD単独治療群、5-FU+FTD同時併用群(5-FUとFTDを同時に併用)、5-FU→FTD順次治療群(5-FU治療後にFTD治療)の4種類の治療群において、癌細胞DNAへのFTD取り込み量について蛍光免疫染色法にて検討した。また、5-FU前治療によるFTDの抗腫瘍効果への影響を、増殖能についてはWST1 assay、Ki-67 indexを用いて、細胞死についてはTrypan blue dye exclusion assayを用いて検討した。

マウス皮下発癌モデルを用いて、未治療群、S-1単独治療群(2週間)、FTD/TPI単独治療群(2週間)、S-1→FTD/TPI治療群(S-1の1週間治療後にFTD/TPIの1週間治療)の各治療群での腫瘍の大きさおよび腫瘍細胞DNAへのFTD取り込み量を比較検討した。

【結果】

DLD-1, PANC-1, KLM-1のいずれの癌細胞株においても、5-FU前治療はFTDのDNAへの取り込みを有意に増加させていた。5-FU+FTD同時併用群と5-FU→FTD順次治療群の比較において、5-FU→FTD順次治療群はFTDの取り込み量を増加させた。DLD-1におけるDNAへのFTD取り込み量の質量分析器を用いた定量解析では、5-FU前治療群と未治療群で、それぞれ 46.6 ± 2.7 vs. 24.8 ± 5.0 pmol/ μ g DNAとなり5-FU前治療群で有意にFTD取り込み量が増加していた。また5-FU前治療群は、DLD-1において増殖を抑制し、細胞死を誘導しており、FTDの抗腫瘍効果を増強させていた。

マウス皮下発癌モデルにおいて各治療群の腫瘍の大きさの平均は、未治療群、S-1単独治療群、FTD/TPI単独治療群、S-1→FTD/TPI順次治療群の順にそれぞれ、 1132 ± 22 、 1075 ± 165 、 662 ± 132 、 582 ± 66 mm³だった (Figure 1a, 1b)。FTD/TPI単独治療群、S-1→FTD/TPI順次治療群では未治療群と比較して有意な腫瘍縮小効果を認めた。S-1→FTD/TPI順次治療群ではFTD/TPI単独治療群と比較して、皮下腫瘍が小さかったが、2群での有意差は認めなかった。腫瘍細胞DNAへのFTD取り込み量の質量分析器を用いた定量解析では、S-1→FTD/TPI治療群(FTD治療は1週間)に投与されたFTD総量はFTD/TPI単独治療群(FTD治療は2週間)の半分だったにも関わらず、DNAに取り込まれたFTD量はFTD/TPI治療群の86.5%に達していた (Figure 1c)。

【考察】

今回、我々は大腸癌細胞株および膵癌細胞株において、5-FUの前治療がDNAへのFTD取り込み量を増加させることを示した。また、マウス皮下発癌モデルにおいて5-FU前治療がFTDの抗腫瘍効果を増強させることを明らかにした。

これまで5-FUや5-fluoro-2'-deoxyuridineなどのチミジン合成酵素阻害剤が2'-bromodeoxyuridineや5-iodo-2'-deoxyuridineなどのチミジンアナログの取り込みを増強することが報告されている。FTDの抗腫瘍効果はDNAへのFTD取り込みに依存しており、FTD取り込み量に比例してその抗腫瘍効果は大きくなる。本研究では、5-FU→FTD順次治療群はFTD単独治療群と比べ、FTDへの暴露時間が半分であるにも関わらず、癌細胞の増殖や生存を強く抑制し、FTDの抗腫瘍効果の向上に有効であった。

また、本研究では5-FUのFTDとの同時投与か、FTDの前投与かによって、FTD取り込み量の異なることを明らかにした。FTDとドセタキセルの併用に関する研究においてFTD→ドセタキセルの順では相乗効果を示すが、その逆の順では拮抗的に作用し、投与の順番によってFTDの抗腫瘍効果に違いの出ることが報告されている。Bensonらは、チミジン合成酵素(Thymidine synthase; TS)が阻害されることで、細胞内のdeoxythymidine triphosphate (dTTP)が減少し、その結果チミジンアナログのDNAへの取り込みが増加すると報告している。チミジンアナログの一種であるFTDにおいても、dTTPの枯渇がFTD取り込みの増加の一因と考えられる。5-FU投与時期によるFTD取り込み量の違いは、5-FUの投与から実際にチミジンが枯渇するまでのタイムラグのため、5-FU+FTD同時併用群ではチミジンが枯渇するのに時間が十分に足りなかったと考えられる。したがって5-FUとFTDとの併用療法においては、5-FU前治療後にFTD投与を行うことが重要である。

S-1とFTD/TPIを用いてin vivo実験によりS-1→FTD/TPI順次治療群ではFTD/TPI単独治療群に比べ、FTDの総投与量が少なく・総治療期間が短いにも関わらず、2群での腫瘍の大きさに違いがなく、同等の抗腫瘍効果を認めた。これらの結果により、S-1とFTD/TPIを順に使用した治療は抗腫瘍効果を増強させ、使用する抗癌剤の量を減らせる可能性が示唆された。しかし、FTD/TPI治療前に使用するS-1の最適な量や期間、合剤であるFTD/TPIのTPIに対するS-1の影響などの検討が不十分である。臨床応用のためには、これらの課題についてさらなる研究が必要である。

【結語】

5-FUによる前治療は大腸癌においてFTDの癌細胞DNAへの取り込みを増加させ、抗腫瘍効果を増強させることを明らかにした。本研究結果はS-1とFTD/TPIを組み合わせた新しい治療を示唆するものであり、大腸癌患者の治療成績のさらなる向上に寄与することが可能と考えられた。