

氏名	長谷川 貴子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位授与番号	博甲第2929号
学位授与の日付	平成17年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Human <i>dihydropyrimidine dehydrogenase</i> 遺伝子の 5'-flanking region の sequence 解析;5-Fluorouracil の効果に関連する新しい多型の同定
論文審査委員	教授 綿矢 有佑 教授 岡本敬の介 教授 佐々木健二

学位論文内容の要旨

長い臨床使用経験に基づく有効性と安全性が確認されている 5-Fluorouracil (5-FU) は、適応腫瘍が多いことが知られている。新規の抗癌剤の開発には莫大な費用と時間がかかる現状をふまえると、化学療法において 5-FU を有効に活用する手段を見いだすことは、臨床上極めて重要である。5-FU の代謝律速酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) が低値の腫瘍では、5-FU の抗腫瘍効果が高いという報告以来、腫瘍内 DPD の発現から 5-FU の抗腫瘍効果を予測する試みが行われている。

今回、37 種のヒト腫瘍細胞より抽出した genome DNA を用いて、DPD 遺伝子の発現を調節するとされる約 3,000bp にわたる 5'-flanking region の多型の有無を調べた。この領域を 8 つに分けて PCR 法で増幅したのち、Dye Terminator 法により sequence 解析を行った。その結果、解析を行った 37 株中 1 株 (DLD-1) で C insertion、7 株 (A549, 4-1ST, AZ-521, TMK-1, TSU-Pr1, MIAPaCa-2, HT1080) で G deletion を検出した。測定した 10 種のヒト腫瘍細胞では、DPD mRNA レベルと DPD 活性との間に重要な相関関係は見られなかったが、C insertion が検出された DLD-1 細胞では DPD mRNA 発現レベルは低値を示し、また、DPD 活性は検出限界以下であった。さらに、Bisulfite 処理したゲノム DNA を用いて C insertion によって出現した CpG 部位のメチル化解析の結果、一部メチル化されていることが判り、DLD-1 細胞での DPD の転写活性化に影響を与えている可能性が示された。

今回 DPD 遺伝子の 5'-flanking region における 2 つの新しい多型を明らかにした。この多型は DPD 遺伝子の転写活性化、発現量に影響を与える可能性が考えられ、多型を調べることにより 5-FU に奏功を示す患者を選択して治療を行うオーダーメイド医療の実現に有用な知見を与えることが期待される。

論文審査結果の要旨

37 種のヒト腫瘍細胞より抽出した genome DNA を用いて、DPD 遺伝子の発現を調節していると考えられる約 3,000bp にわたる 5'-flanking region の多型の有無を調べた。5'-flanking region を 8 領域に分けて PCR 法で増幅したのち、Dye Terminator 法により sequence 解析を行った。その結果、解析を行った 37 株中 1 株 (DLD-1) で C insertion、7 株 (A549, 4-1ST, AZ-521, TMK-1, TSU-Pr1, MIAPaCa-2, HT1080) で G deletion を検出した。これらは、全てヘテロ型であった。測定をおこなった 10 種のヒト腫瘍細胞では、DPD mRNA 発現レベルと DPD 活性との間に重要な相関関係は見られなかった。しかしながら、C insertion が検出された DLD-1 細胞では DPD mRNA 発現レベルは低値を示し、また、DPD 活性は検出限界以下であった (≤ 0.5 pmol/min/mg protein)。さらに、Bisulfite 処理したゲノム DNA を用いて C insertion によって出現した CpG 部位のメチル化解析を行ったところ、シトシン残基の 5 位が 50% の割合でメチル化されていることが判り、DLD-1 細胞での DPD の転写活性化に影響を与えている可能性が示された。

DPD 遺伝子の 5'-flanking region における sequence 解析により、2 つの新しい多型を明らかにした。この多型は DPD 遺伝子の転写活性化、発現量に影響を与える可能性が考えられ、多型を調べることにより 5-FU に奏功を示す患者を選択して治療を行うオーダーメイド医療の実現に有用な知見を与えるものである。

本論文は博士の学位に値する。