

## 乳癌組織内およびリンパ節内DPD測定の臨床的意義

片岡 健<sup>1)</sup>・角舎学行<sup>1)</sup>・杉 桂二<sup>1)</sup>・高橋 護<sup>1)</sup>  
 春田るみ<sup>1)</sup>・後藤孝彦<sup>1)</sup>・浅原利正<sup>1)</sup>・土肥雪彦<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 広島大学医学部第二外科、<sup>2)</sup> 県立広島病院

### 要 旨

〔緒言〕今回われわれは、5-FU代謝における重要な律速酵素の一つであるDPDについて、乳癌腫瘍組織内およびリンパ節内DPD活性を測定することが、乳癌に対する5-FU製剤の治療効果予知の指標となりうるか否かについて検討した。〔対象・方法〕対象は1998.1.~1999.6.に当科で摘出術を行った乳癌症例。このうち術前UFT投与群14例、非投与群41例の計55例において、腫瘍組織、正常乳腺、所属リンパ節および末梢血単核球のDPD活性を、またUFT投与群においては腫瘍および血清中FU濃度を測定した。〔結果〕(1)正常組織DPD活性に比べ腫瘍組織、所属リンパ節および単核球DPD活性は共に有意に高かった( $p < 0.01$ )。 (2)腫瘍内組織および正常組織DPD活性値は正の相関を示し、また所属リンパ節では正常リンパ節より転移リンパ節においてより強い正の相関が見られた。 (3)腫瘍内DPD活性とFU濃度および転移リンパ節内DPD活性とFU濃度は、共に逆相関を示した。〔結語〕腫瘍内および転移リンパ節内のDPD活性が高いものは低いものに比べFU濃度が低く、腫瘍組織においてDPDによるFUの分解が促進されていることが示唆された。従ってDPD活性が高い症例ではFU剤の投与量を調整するなどFU濃度を上昇させる工夫が必要と思われた。更にDPD活性が正常乳腺に比し腫瘍組織内で有意に高値を示したことより、腫瘍組織内DPD活性を制御

することがFU系抗癌剤の治療効果を増強させる上で非常に重要な要因の一つと考えられた。

### はじめに

DPD(dihydropyrimidine dehydrogenase)は生体内での5-Fluorouracil(5-FU)代謝における律速酵素の一つである。しかし標的臓器、特に腫瘍組織内でのDPDの役割については未だ不明な点が多い。そこで今回、乳癌の腫瘍組織およびリンパ節内DPD活性を測定することが乳癌に対する5-FU製剤の治療効果予知の指標となりうるか否かについて検討したので、若干の文献的考察を加えて報告する。

### 対象と方法

1998年1月より1999年6月までに広島大学第2外科で摘出手術を行った乳癌症例のうち、本試験に対するインフォームド・コンセントの得られた乳癌55症例を対象とした。内訳は、術前日まで5日間UFT 600mg/日投与群14例、非投与群41例の合計55例であり、その背景因子を表1に示した。これら55例に対し術中可能な限り凍結保存した乳癌腫瘍組織、正常乳腺、転移

表1 対象症例の背景因子

年齢(歳)	平均 53.8歳 (29歳~91歳)	
腫瘍組織型	原発性 50例	再発性 5例
	乳頭腺管 9例	充実腺管 18例
	硬癌 15例	小葉癌 3例
	その他 5例	再発 5例
病期 (tmm分類)	I 37例	II 9例 III 3例
	IV 1例	再発 5例

連絡先：〒734-8551 広島市南区霞1-2-3  
 広島大学医学部第二外科  
 Tel 082-257-5222, Fax 082-257-5224  
 E-mail:katachan@hiroshima-u.ac.jp

リンパ節、正常リンパ節および末梢血単核球の DPD 活性を測定した<sup>1)2)</sup>。また UFT 投与群においては腫瘍内および血清内 FU 濃度も併せて測定した<sup>3)</sup>。なお採血は術当日朝、手術はほぼ全例午後昼間に行い、採取したリンパ節は術中迅速病理にて転移か否かを確認したものを評価対象とした。しかしリンパ節転移のないものや検体不足の症例もあり、これらを一括して DPD 活性を平均値±標準偏差値で表した。なお統計学的処理はt検定による。

結果

まず組織内 DPD 活性値の比較であるが、正常乳腺組織の DPD 活性は42.80±36.39 pmol/mg/min. と最も低く、腫瘍(137.64±112.43)並びに所属リンパ節、単核球の DPD 活性(235.30±129.52)は正常組織のそれと比較すると有意に高かった。(図1)

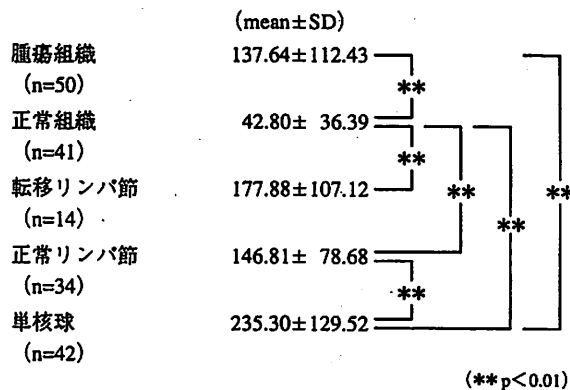


図1 全症例における組織内 DPD 活性 (pmol/mg/min)

特に同一症例(n=41)における組織内 DPD 活性は正常組織42.80±36.39 pmol/mg/min に比べ腫瘍組織124.37±79.62 pmol/mg/min と有意に高かった。(p<0.01) また同一症例におけるリンパ節内 DPD 活性(n=12)も正常リンパ節に比して転移リンパ節で高い傾向を示したが、有意差は見られなかった。(図2) なお腫瘍内 DPD は stage、t 因子、組織型などとは明らかな相関関係を認めなかった。(図3)

次に術前 UFT 投与群において腫瘍内 DPD 活性が腫瘍内 FU 濃度とどのような関係があるか調べる目的で両者の相関を見た(両者共に測

定し得たものは14例)ところ、負の相関が見られ、腫瘍内で DPD 活性が昂進している状態では FU 濃度が低下する傾向があった。(図4)

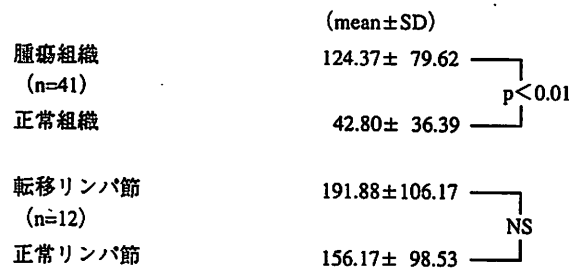


図2 同一症例における組織内 DPD 活性 (pmol/mg/min)

stage	(mean±SD)
I (n=32)	129.54±119.93
II (n=9)	161.02±107.28 (NS)
III (n=3)	188.74±117.96
t 因子	
t1 (n=22)	129.89±80.35
t2 (n=22)	145.51±142.21 (NS)
t3 (n=2)	147.02±138.51
組織型	
乳頭腺管 (n=7)	98.00±76.66
充実腺管 (n=17)	178.12±160.04 (NS)
硬癌 (n=15)	131.09±72.86

図3 背景因子別における腫瘍組織内 DPD 活性 (pmol/mg/min)

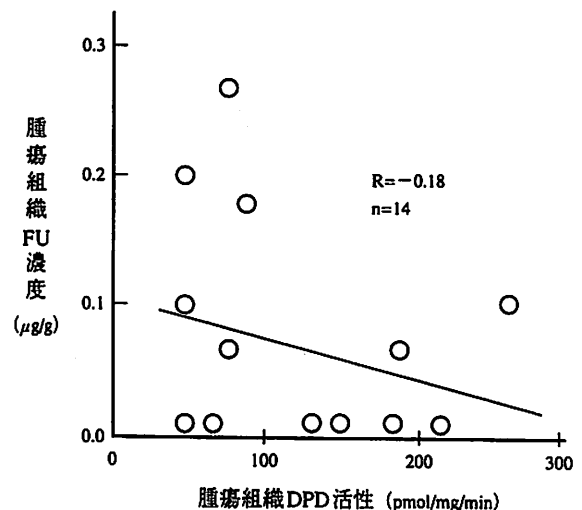


図4 腫瘍組織における DPD 活性 vs FU 濃度

一方、所属リンパ節内 DPD 活性と FU 濃度についても検討したが、正常リンパ節では相関は見られなかったが、転移リンパ節 (n=6) では負の相関が見られ、腫瘍組織におけるそれよりも強い逆相関を示した。(図5) 特に腫瘍組織

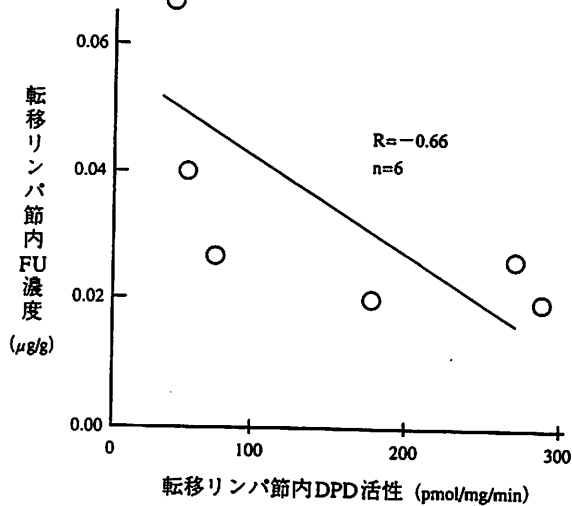


図5 転移リンパ節における DPD 活性 vs FU 濃度

またはリンパ節内 DPD 活性が 100 pmol/mg/min 未満の時の FU 濃度は、100 pmol/mg/min 以上の時に比べ共に高い傾向を示した。なお正常組織の DPD 活性と腫瘍内 FU 濃度並びに単核球中の DPD 活性と血清中 FU 濃度の相関も調べたが、何ら相関は認めなかった。

### 考 察

抗癌剤の一つである FU 系薬剤は生体内で tegafur から変換された後 uracil と同じ代謝経路で進み、DNA 合成阻害並びに RNA 機能障害を引き起こすことにより抗腫瘍効果を発揮するが、FU は肝臓においてその殆どが F-β-Ala まで分解される。(図6) DPD はこのような 5-FU 代謝における重要な律速酵素の一つと考えられている<sup>1)2)</sup>。

しかしこれまで各腫瘍組織内での DPD 発現の意義や DPD レベルと抗腫瘍効果発現の程度などについて、十分なる検討がなされているとは言いがたい。一般に DPD 活性は in vivo においては肝臓で最もその活性が高いと報告されている<sup>2)4)-6)</sup>が、腫瘍組織やリンパ節における活

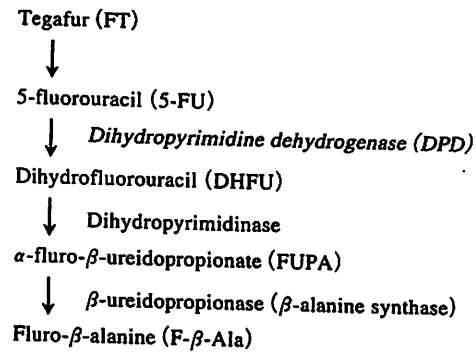


図6 5-FU 代謝における DPD の役割

性の程度についてはいまだほとんど報告が見られない。今回われわれは乳癌症例の DPD 活性を測定し、正常乳腺組織に比し腫瘍組織、リンパ節、単核球に高い活性が認められた。

ところでこれまで末梢血単核球の DPD 活性と肝臓における DPD 活性には相関があると言われており<sup>4)</sup>、従って単核球中の DPD 活性を肝臓の DPD 活性の代替に利用できるとの報告もある<sup>5)</sup>が、いまだ定かではない。われわれが測定した単核球中の DPD 活性は他の組織と比較して相対的に高く、諸家の報告を支持する結果であったが、乳癌患者から肝臓組織を採取できないため、両者に相関があるかどうかを本研究結果だけでは実証困難であった。

一方 DPD 活性には日内変動があり、FU の持続静脈内投与を行っても、症例により血中 FU 濃度がばらつく原因の一つとされている<sup>6)</sup>。DPD 活性はヒトにおいては昼間で高く、夜間低いとの報告が多く、また血中の FU 濃度も夜間で高く出るという報告がある<sup>2)7)</sup>。しかし Harris ら<sup>6)</sup>は DPD 活性は昼間低く、FU 濃度は昼間高いとの全く逆の報告をしている。いずれにしても DPD 活性および FU 濃度に日内変動があることは間違いなく、DPD 活性で 2~3 倍、FU 濃度で 2~5 倍の差異があると言われているが、症例によってズレがあり、一定の傾向が出せない状況と思われる。しかし今回われわれは採血を手術当日朝に、手術は全て昼間(ほとんど午後)に行ない、術後直ちに凍結保存しているので日内変動による DPD 活性および FU 濃度測定値への影響は少ないものと思われた。

今回、われわれが測定し得た乳癌臨床検体の

結果では、相対的に腫瘍組織あるいはリンパ節組織で DPD 活性が高く、腫瘍内の DPD 活性が高い症例においては他部位においても DPD 活性が亢進していると考えられた。また DPD 活性の多寡が FU の代謝にどのように影響を及ぼすかを検討するために、組織内および血清中の FU 濃度を測定した。その結果、DPD 活性が亢進していると思われる腫瘍組織および転移リンパ節の FU 濃度は DPD 活性によりある程度制御されており、DPD によって組織内でも FU が分解されている可能性があると考えられた。即ち腫瘍内および転移リンパ節内の DPD 活性が高いものは低いものに比べて FU 濃度が低くなるため、DPD による分解が促進されているものと思われる。

一方 5-FU は生体内では DPD および dihydropyrimidase,  $\beta$ -ureidopropionase ( $\beta$ -alanine synthase) という 3 つの酵素により、主として肝臓で fluoro- $\beta$ -alanine (F- $\beta$ -Ala) にまで分解される<sup>21,22)</sup>が、これらのうち DPD が律速酵素となっている。(図 6) Diasio ら<sup>21)</sup> は生体内に投与された FU は肝臓において約 80% が分解されると報告しており、Beck ら<sup>4)</sup> は腫瘍内の DPD 活性のレベルと FU に対する IC<sub>50</sub> は正の相関を示したと報告している。また Takechi ら<sup>5)</sup> は腫瘍内の DPD を制御する目的で FU に uracil を添加し、FU 量は一定でも uracil の添加量に応じて抗腫瘍効果の増強を認めている。

このように DPD は FU 系抗癌剤による化学療法の律速となる酵素であり、生体における DPD の変動が FU 系抗癌剤の臨床効果の予知につながることを期待される<sup>10)</sup>。われわれは乳癌症例に術前 UFT を投与し、臨床効果を予想する上で、組織内における DPD 活性と FU 濃度を測定して、両者に負の相関が見られ、特に転移リンパ節において強い逆相関が見られたことより、乳癌症例に対して FU 系抗癌剤を投与する上で非常に有用な指標となり得ることが示唆された。従って腫瘍およびリンパ節内の DPD 活性が高い症例では FU 剤の投与量を調整するなど FU 濃度を上昇させる必要があるものと思われた<sup>6,11,12)</sup>。また DPD 活性が正常乳

腺に比して腫瘍内に有意に高値を示したことより、DPD 活性を制御することが FU 系抗癌剤の効果増強に関与するものと思われる。

一方、FU 製剤濃度を上昇させる上で安全性の面からその投与規定因子 (dose limiting factor) は消化器症状と思われるが、最近このような消化器毒性を軽減しつつより抗腫瘍効果を発揮する新規薬剤として S-1 が開発された<sup>13)-15)</sup>。S-1 は 5-FU のプロドラッグである FT にその modulator として主として肝臓における DPD の強力な阻害作用を有する (uracil の約 200 倍) 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine (CDHP) と、消化管粘膜での 5-FU のリン酸化を阻害 (消化器症状を軽減) する potassium oxonate (Oxo) をモル比で FT : CDHP : Oxo = 1 : 0.4 : 1 の割合に配合された新規抗癌剤である<sup>13)</sup>。これはすでに胃癌<sup>14)</sup> に適応症を有し、市販されている。また乳癌<sup>15)</sup> においては現在、承認申請中の薬剤である。従って、本研究と同様 DPD をはじめとした更なる検討により、所謂 evidence based medicine に基づいた、より毒性の少ない、より効果的で有効な FU 系抗癌剤投与が可能となるものと思われる。

## 結 語

乳癌腫瘍組織およびリンパ節内 DPD 測定が乳癌に対する 5-FU 剤の治療効果予知の指標となりうるか否かについて検討し、以下の結果を得た。(1) 正常組織内 DPD 活性に比べ腫瘍内 DPD 活性は有意に高かった。(p < 0.01) (2) 正常組織内 DPD 活性に比べ、所属リンパ節 DPD 活性および単核球 DPD 活性は有意に高かった。(p < 0.01) (3) 腫瘍内 DPD 活性と正常組織 DPD 活性は正の相関を示し、所属リンパ節では正常リンパ節より転移リンパ節でより強い正の相関を示した。(4) 腫瘍内 DPD 活性と腫瘍内 FU 濃度および転移リンパ節と転移リンパ節内 FU 濃度とは共に負の相関を示した。

以上より DPD 活性が高い症例では FU 剤の投与量を調整するなど FU 濃度を上昇させる工夫が必要と思われた。更に DPD 活性が正常乳腺に比し腫瘍組織内に有意に高値を示したことより、DPD 活性を制御することが FU 系抗癌

剤の治療効果を増強させる上で非常に重要な要因の一つと考えられた。

#### 参考文献

- 1) Naguib, F. N. M. et al: Enzymes of uracil catabolism in normal and neoplastic human tissues, *Cancer Res* 45 : 5405-5412, 1985
- 2) 丸中照義・他: 生体試料中の1-(Tetrahydro-2-furanyl)-5-fluorouracil(FT-207) 及び 5-Fluorouracil(5-FU) の定量法, *医薬品研究* 11 : 307-313, 1980
- 3) Diasio, R. B. et al: Clinical pharmacology of 5-fluorouracil, *Clin Pharmacokinetic* 16 : 215-237, 1989
- 4) Beck, A. et al: A role for dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidylate synthase in tumour sensitivity to fluorouracil, *Eur J Cancer* 30 : 1517-1522, 1994
- 5) Takechi, T. et al: Enhancing 5-fluorouracil cytotoxicity by inhibiting dihydropyrimidine dehydrogenase activity with uracil in human tumor cells, *Int J Oncology* 11 : 1041-1044, 1997
- 6) ZLamont, E. B. et al: The oral fluoropyrimidines in cancer chemotherapy, *Clin Cancer Res* 5 : 2289-2296, 1999
- 7) Metzger, G. et al: Spontaneous or imposed circadian changes in plasma concentrations of 5-fluorouracil coadministered with folinic acid and oxaliplatin: Relationship with mucosal toxicity in patients with cancer, *Clin Pharmacology & Therapeutics* 56 : 190-201, 1994
- 8) Harris, B. E. et al: Relationship between dihydropyrimidine dehydrogenase activity and plasma 5-fluorouracil levels with evidence for circadian variation of enzyme activity and plasma drug levels in cancer patients receiving 5-fluorouracil by protracted continuous infusion, *Cancer Res* 50 : 197-201, 1990
- 9) Gonzalez, F. J. et al: Diagnostic analysis, clinical importance and molecular basis of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency, *Trends Pharmacol Sci* 16 : 325-327, 1995
- 10) Diasio, R. B. et al: Dihydropyrimidine dehydrogenase activity and fluorouracil chemotherapy, *J Clin Oncol* 12 : 2239-2242, 1994
- 11) Milano, G. et al: Potential importance of dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD) in cancer chemotherapy, *Pharmacogenetics* 4 : 301-306, 1994
- 12) Etienne, M. C. et al: Population study of dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer patients, *J Clin Oncol* 12 : 2248-2253, 1994
- 13) Shirasaka, T. et al: Antitumor activity of 1<sub>M</sub> tegafur-0.4<sub>M</sub> 5-chloro-2,4-dihydropyridine-1<sub>M</sub> potassium oxonate (S-1) against human colon carcinoma orthotopically implanted into nude rats, *Cancer Res* 56 : 2602-2606, 1996
- 14) Sakata, Y. et al: Late phase II study of novel oral fluoropyrimidine anticancer drug S-1(1M tegafur-0.4M gimestat-1M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients, *Eur J Cancer* 34 : 1715-1720, 1998
- 15) 田口鐵男・他: 進行・再発乳癌患者に対するS-1の前期臨床第II相試験, *癌と化学療法* 25 : 1035-1043, 1998