

論文審査の要旨

報告番号	総論第 40 号	学位申請者	西澤 由紀彦
審査委員	主査	宮田 篤郎	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	中川 昌之	副査 河野 嘉文
	副査	中村 典史	副査 上野 真一

5-Aza-2-deoxycytidine enhances the sensitivity of 5-fluorouracil by demethylation of the thymidine phosphorylase promoter

(5-Aza-2-deoxycytidine は thymidine phosphorylase の脱メチル化を介して 5-fluorouracil の感受性を高める)

5-fluorouracil (5-FU) は、ピリミジン代謝拮抗薬であり、多剤や放射線と併用されて用いられることの多い薬剤である。また、5-FU の抗腫瘍効果は、5-FU が活性代謝物である FdUMP に変換され、FdUMP が thymidylate synthase と活性葉酸と三元複合体を形成することにより抗腫瘍効果を示すことが知られている。5-FU は DNA の脱メチル化作用を持つ 5-Aza-2-deoxycytidine (5-Aza-CdR) と併用することにより抗腫瘍効果が高まることが報告されているが、その詳細な分子生物学的な機序は不明なままであった。そこで学位申請者らは、5-FU を FdUMP に変換する酵素の一つである、thymidine phosphorylase (TP) に着目し、5-Aza-CdR が TP に与える影響を検討し、5-Aza-CdR による 5-FU の抗腫瘍効果増強の機序の探索を行った。ヒト類表皮細胞株である KB3-1 細胞、ヒト子宮頸癌細胞株である yumoto 細胞、その他数種の細胞株を用い、TP や TP の発現制御を行っている転写因子である Sp-1 のタンパク質発現を Immunoblotting 法、mRNA を RT-PCR 法により測定した。Sp-1 と TP promoter の結合を ChIP assay により評価を行った。また、TP promoter のメチル化修飾の有無は Bisulfite sequencing 法や methylation specific PCR 法により評価を行った。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) 5-Aza-CdR は TP の発現を亢進させることにより 5-FU の抗腫瘍効果を高める。
- 2) 5-Aza-CdR による 5-FU の抗腫瘍効果増強作用には TP の酵素活性が重要な働きを担っている。
- 3) 5-Aza-CdR は TP promoter の Sp-1 結合領域 (-1116、-983、-903) のメチル化を解除し、Sp-1 との結合を増強させ、TP の発現を亢進させる。

本研究により 5-FU /5-Aza-CdR 併用療法による効果増強の分子生物学的機序を解明したことは、癌治療への新しいアプローチを示す上で重要な知見である。その中でも TP promoter の特定領域におけるメチル化が重要な役割を担っていることを示した点でも非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。