

Title	Selective augmentation of intratumoral 5-fluorouracil concentration by local immunotherapy with OK-432/fibrinogen
Author(s)	天野, 正弘
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43053">https://hdl.handle.net/11094/43053</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	あまのまさひろ 天野正弘
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 15008 号
学位授与年月日	平成 11 年 12 月 9 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Selective augmentation of intratumoral 5-fluorouracil concentration by local immunotherapy with OK-432/fibrinogen (OK-432/fibrinogen の局所免疫療法による腫瘍内 5-FU 濃度の選択的上昇効果)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 青笹 克之

## 論文内容の要旨

【目的】 大腸癌に対する化学療法として 5-fluorouracil (5-FU) を初めとするフッ化ピリミジン系の抗癌剤が広く臨床に用いられているが、骨髄抑制、粘膜障害などの副作用のために十分な効果をあげているとは言えない。そこで、腫瘍選択性を高めるために 5-FU を prodrug の形で投与しようとする方法が考案され、その一つに 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) がある。5'-DFUR は核酸代謝酵素、pyrimidine nucleoside phosphorylase (PyNPase) によって 5-FU と deoxy-ribose に分解される。この PyNPase は正常組織に比べて乳癌、胃癌、大腸癌などの腫瘍組織に高濃度に存在するとされており、5-FU を投与した場合に比べると 5'-DFUR は腫瘍局所で選択的に高い 5-FU 濃度を得ることができる。そこで、腫瘍内の PyNPase 活性をさらに高めることができれば、一層腫瘍選択的に 5-FU 濃度を高めることができると考えられる。

一方、これまで腫瘍における PyNPase 産生細胞は腫瘍細胞であるとされてきたが、我々は抗 PyNPase 抗体を用いた免疫組織学的検討により、大腸癌における PyNPase 産生細胞は、癌細胞よりもむしろ間質に浸潤するマクロファージや線維芽細胞であることを見出した。そして、ヒト末梢血マクロファージを用いた in vitro の実験において、免疫賦活剤である OK-432 による刺激を加えることで、各々のマクロファージによる PyNPase 産生が著明に増強することを明らかにした。そして、OK-432 の刺激がマクロファージによる 5'-DFUR から 5-FU への変換を増強することが期待される。

本研究は以上の点に鑑み、5'-DFUR による化学療法を行う際に、大腸癌に対して OK-432 による刺激を腫瘍に加えることで局所に高い PyNPase 活性を誘導し、腫瘍内の 5-FU 濃度を選択的に高めることが可能かどうかを臨床例において明らかにすることを目的とした。

【方法】 まず、in vitro の実験において、5'-DFUR を含む培養液中のヒト末梢血単球を OK-432 [0.05 KE/ml] で刺激し、その培養液中の 5-FU 濃度を経時的に測定することによって、5'-DFUR から 5-FU への変換が、OK-432 の刺激によって増強されているかどうかを検討した。

つぎに、臨床例における検討を、術前にインフォームドコンセントの得られた進行大腸癌の手術症例 22 例を対象とし

て行った。化学療法は術前7日間、手術当日朝まで5'-DFUR [600 mg/day] または5-FU [200 mg/day] を経口投与した。局所免疫療法は術前3日目にOK-432 [5 KE] とfibrinogen [80 mg] との混合液 (OK/fbg) を内視鏡下に腫瘍局所に注入した。対象の22症例を、5'-DFURの経口投与のみを行った5'-DFUR単独群11症例、5'-DFURの経口投与と局所免疫療法を併用した5'-DFUR+OK/fbg群9症例、5-FUの経口投与と局所免疫療法を併用した5-FU+OK/fbg群2症例、の3群に分けて検討を行った。まず、切除標本において、癌間質へのマクロファージの浸潤の程度、および各マクロファージのPyNPase発現をモノクローナル抗体であるHAM56 (抗マクロファージ抗体) および654-1 (抗PyNPase抗体) を用い、免疫組織学的に検討した。さらに、正常粘膜組織と腫瘍組織の5-FU濃度をGC-MS法にて測定して、3群間の差を比較し、局所免疫療法が腫瘍組織内のPyNPase発現、および腫瘍組織内5-FU濃度に与える影響を評価した。

【成績】 ヒト末梢血単球でのin vitroの検討では、単球の培養液中の5'-DFURは時間依存的に5-FUに変換され、その効率はOK-432で刺激することによって約3倍に増強されることが確認された。

つぎに、臨床例における免疫組織学的な検討において、正常粘膜では粘膜上皮細胞は抗PyNPase抗体に染まらず、間質に強く染まる細胞があったが、この細胞の多くはHAM56染色陽性でマクロファージと考えられた。一方、癌組織では、癌細胞は2症例で染色性を認めたものの、残りの症例では染まらず、間質に浸潤するマクロファージのみが強く染まっていた。HAM56での免疫染色の結果から、癌間質への浸潤細胞はマクロファージであると推測され、その数はOK-432/fibrinogen局注によって有意に増加していた (5'-DFUR単独群 $40.2 \pm 8.3$  [/200×field] (mean±S.D.) v. s. 5'-DFUR+OK/fbg群 $64.6 \pm 23.7$  [/200×field] ( $p < 0.05$ ))。

次に、組織中の5-FU濃度を測定したところ、5'-DFUR単独群では $50.5 \pm 10.4$  [ng/wet g tissue] (mean±S.E.)、5'-DFUR+OK/fbg群では $112.2 \pm 31.3$  [ng/wet g tissue] とOK/fbg投与により著明に高値を示すことが判明した。一方、正常粘膜組織中の5-FU濃度は、5'-DFUR単独群 $18.7 \pm 6.8$  [ng/wet g tissue] に対し5'-DFUR+OK/fbg群 $21.0 \pm 6.3$  [ng/wet g tissue] で、両群間に差を認めなかった。腫瘍組織と正常粘膜組織の5-FU濃度を比較すると、両群とも有意に腫瘍組織において5-FU濃度が高かったが、腫瘍と正常組織の濃度比は、5'-DFUR単独群 $3.8 \pm 0.6$  に対し5'-DFUR+OK/fbg群 $10.2 \pm 3.2$ で有意に高値を示し、5'-DFUR+OK/fbg群で、より腫瘍選択的に5-FU濃度が上昇していた ( $p < 0.05$ )。5-FU+OK/fbg群では5'-DFUR+OK/fbg群と比較し、5-FU濃度が正常粘膜組織で高いにもかかわらず、腫瘍組織の5-FU濃度は低く、腫瘍内5-FU濃度の選択的な上昇効果は認められなかった。

【総括】 OK-432/fibrinogenによる局所免疫療法によって、大腸癌間質に抗PyNPase抗体に強く染まるマクロファージの浸潤を誘導できた。また、5'-DFURによる化学療法と併用することにより、腫瘍内5-FU濃度が選択的に高まることが確認できた。

以上のことから、OK-432/fibrinogenによる局所免疫療法で誘導されたマクロファージが発現するPyNPaseによって5'-DFURが5-FUへと変換されることが推測され、5'-DFURによる化学療法との併用が、腫瘍選択的に強力な抗腫瘍効果を発現できる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、大腸癌に対し5'-DFURによる化学療法を行う際にOK-432による局所免疫刺激を腫瘍に加えることで局所に高いPyNPase活性を誘導し、腫瘍内の5-FU濃度を選択的に高めることの可能性を検討したものである。まず、in vitroの実験において、5'-DFURを含む培養液中のヒト末梢血単球をOK-432で刺激すると、時間依存的に5-FUに変換され、その効率はOK-432の刺激で約3倍に増強されることが確認された。つぎに、臨床例において進行大腸癌の手術症例を対象として、5'-DFURの経口投与のみを行った5'-DFUR単独群、5'-DFURの経口投与と局所免疫療法を併用した5'-DFUR+OK/fbg群、5-FUの経口投与と局所免疫療法を併用した5-FU+OK/fbg群に分けて検討を行った。免疫組織学的な検討において、癌間質へ浸潤したPyNPase染色陽性細胞はマクロファージであり、その数はOK

-432/fibrinogen 局注によって有意に増加していた。次に、組織中の 5-FU 濃度を測定したところ、5'-DFUR+OK/fbg 群では OK/fbg 投与により著明に高値を示すことが判明した。

以上の知見は、OK-432/fibrinogen による局所免疫療法によって、大腸癌間質に PyNPase を誘導し、5'-DFUR による化学療法と併用することにより、腫瘍内 5-FU 濃度を選択的に高めることを明らかにしたものである。この併用療法を今後臨床例に応用し、腫瘍選択的に強力な抗腫瘍効果を発現できる可能性を含んでおり、学位の授与に値すると考えられる。