日消外会誌　32（7）：1955～1961，1999年

原　著

胃癌における thymidylate synthase 活性および dihydropyrimidine dehydrogenase 活性の測定による5-fluorouracil の効果予測に関する検討

岩手医科大学医学部外科学第１講座
入野田　崇　　寺島　雅典　　川村　英伸　　高金　明典

腫瘍組織の酵素活性から5-fluorouracil（5-FU）の治療効果を予測する事を目的に，胃癌における thymidylate synthase（TS）活性及び dihydropyrimidine dehydrogenase（DPD）活性を測定し，5-FU の感受性との関連について検討した．胃癌細胞株８株，ヌードマウス可移植ヒト胃癌株４株，および胃癌臨床検体40検体を対象とした．TS 活性を[^{3}H]-FdUMP binding assay にて，DPD 活性を薄層クロマトグラフィー法にて測定した．5-FU の感受性は細胞株では MTT 法により，臨床検体では無血清培養による ATP 法により判定した．胃癌細胞株とヌードマウス可移植ヒト腫瘍では，5-FU に対する感受性は TS 活性と DPD 活性の両者に相関していた．臨床検体では，5-FU に対する感受性と DPD 活性との間に有意な相関を認めた．胃癌において腫瘍組織の TS 活性，DPD 活性を測定することにより5-FU の抗腫瘍効果を予瀬出来る可能性が示唆された．

Key words： 5-fluorouracil, thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase, gastric cancer, drug sensitivity

はじめに

5-Fluorouracil（5-FU）は1957年に Heidelberger ら[1]によって開発され，固形癌の化学療法剤として広く使用されており，現在でも消化器癌に対する化学療法において最も重要な薬剤である[2]．その抗腫瘍効果の作用機序としては，fluorouracil がリン酸化されて5-fluorouridine 5'-triphosphate（FUTP）となり RNA に取り込まれることによる RNA の機能障害と，5-fluoro-2'-deoxyuridine 5'-monophosphate（FdUMP）が，チミジル酸合成酵素である thymidylate synthase（TS），と還元型葉酸と ternary complex を形成し DNA 合成を阻害する事が挙げられる．RNA と DNA のどちらの系が優位となるかは5-FU の投与方法によって異なることが知られているが，消化器癌化学療法によって汎用される持続投与の際には DNA の合成障害が主たる作用機序として考えられている[3]．この際腫瘍組織内 TS 活性と5-FU の抗腫瘍効果が相関することが基礎的，臨床的に確認され種々の報告がなされている[4)～6)]．

一方，近年5-FU の分解酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase（DPD）活性が5-FU による副作用の発現に関与し，生体内に DPD が欠損した症例では，5-FU の投与により重篤な副作用が生ずる事が報告されている[7]．更に細胞内の DPD 活性が高い腫瘍では，5-FU の分解亢進により抗腫瘍効果が低下することが報告されている[8]．

そこで，我々は胃癌における酵素活性からみた5-FU の治療効果予測の可能性について検索する目的で，腫瘍における TS 活性，DPD 活性と5-FU の感受性との関連について胃癌培養細胞株，ヌードマウス可移植腫瘍，臨床検体を用いて検討した．

対象および方法

1．対象

1）胃癌培養細胞株

胃癌培養細胞株として理研細胞バンクより入手した MKN-1，MKN-7，MKN-28，MKN-45，MKN-74，GCIY，GT3TKB，また，当科で樹立し継代維持している ISt-

＜1999年２月24日受理＞別刷請求先：入野田　崇
〒020-8505　盛岡市内丸19―1　岩手医科大学医学部第１外科

1を使用した[9].

2）ヌードマウス可移植ヒト腫瘍

MKN-1, MKN-74, GCIY, GT3TKB の細胞を雄性BALB/cA ヌードマウス（日本クレア社）皮下に移植しヌードマウス可移植ヒト腫瘍を作成した.

3）胃癌腫瘍臨床検体

1997年4月より1998年9月まで当科において切除された胃癌症例40例から胃癌腫瘍組織40検体を採取した.

2．方法

上記の検体において，TS 活性，DPD 活性を測定し，5-FU に対する感受性と比較検討した.

1）TS 活性の測定

TS 活性および DPD 活性測定用の酵素溶液を既法[8]に従い作製した.

酵素溶液中の蛋白濃度は Bardford 法[10]により測定した.

TS 活性の測定は Spears らの方法[11]に準じた．上記で得られた酵素溶液に0.6M NH_4HCO_3（pH 8.0），0.1M mercaptoethanol, 0.1M NaF および15mM 5-cytidine-monophosphate（CMP）混成溶液を添加後，25℃で3時間反応させた．さらに[^{3}H]-FdUMP を添加後，2mM tetrahydrofolate，16mM ascorbate，9mM formaldehyde, 15mM 5-CMP, 20mM β-mercaptoetoethanol, 100 mM NaF を添加し，30℃で20分間反応させた．反応溶液を3,000rpm にて5分間遠心分離後，沈殿物に蟻酸を加えシンチレーションカウンターにて TS に結合している EdUMP の放射活性を測定した. [^{3}H]-FdUMP の比放射活性から TS 活性を算出し，蛋白濃度で除した比活性（fmol/mg protein）で表した.

2）DPD 活性の測定

上記酵素溶液を用いて，Ikenaka ら[12]の方法に従って測定した．反応生成物の分離定量には，薄層クロマトグラフィー法を用いた．5-FU 画分と5-FU 分解画分の放射活性をイメージングアナライザー（Bio-Rad 社）により定量し, 分解効率を求めさらに蛋白濃度で除し，DPD 活性を1mg の蛋白質に対し1分間に形成される比活性（pmol/mg/min）で表した.

3）5-FU に対する感受性

a）胃癌培養細胞株

3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphennyl tetrazolium bromide（MTT）法により判定した[13]．各細胞において5-FU に対する dose response curve を作製し，50%増殖抑制濃度（IC_{50}値）を求めた.

Table 1　Intracellular TS, DPD activities and sensitivity to 5-FU in humun gastric cancer cell lines

Cell line	TS (fmol/mg protein)	DPD (pmol/mg/min)	5-FU IC_{50} (Mean/S.D.[2]) (μg/ml)
MKN-1	187	N.D.[1]	0.14 ± 0.10
MKN-7	658	1.498	4.97 ± 1.85
MKN-28	238	0.780	3.22 ± 1.12
MKN-45	297	N.D.	0.26 ± 1.12
MKN-74	173	N.D.	0.40 ± 0.14
GCIY	111	3.440	3.00 ± 1.24
GT3TKB	2,698	N.D.	2.10 ± 0.52
ISt-1	110	0.720	2.50 ± 1.08

[1]；N.D., not-detectable, [2]；S.D., standard deviation

b）ヌードマウス可移植ヒト腫瘍

腫瘍組織を細切後, 5-FU 投与群4匹と非投与群4匹の皮下に移植した．経時的に腫瘍体積（長径×短径^2×1/2）を算出し[14]，腫瘍体積が100mm^{3}に達した時点で，5-FU 投与群においては5-FU 50mg/kg を4日ごとに3回腹腔内投与した．薬剤投与開始後3週間まで腫瘍径を測定し，相対腫瘍増殖率（T/C%）から抗腫瘍効果を判定した.

c）胃癌腫瘍臨床検体

当科で開発した無血清培養を用いた ATP 法にて判定した[15]．細胞内 ATP 量の定量には bioluminescence 法を用いた．5-FU に対する感受性は5-FU 添加群と薬剤無添加対照群の細胞内 ATP 量の比を求め，相対腫瘍増殖率（T/C%）により判定した.

3．統計学的解析

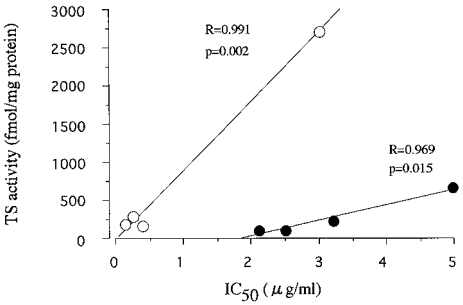
統計処理は StatView version 4.5（Abacus Concepts 社）を使用した．測定値は平均値±標準偏差（Mean ±S. D.），中央値で表示し，相関関係は Pearson の確率相関係数の検定を用い, 危険率5%未満の場合を有意差ありと判定した.

結　果

1．胃癌培養細胞株

胃癌細胞株の TS 活性は111～2,698fmol/mg protein に分布しており，GT3TKB が最も高値で ISt-1が最も低値であった．DPD 活性は全体に低値で MKN-7, MKN-28, GCIY, ISt-1の4株でのみ検出可能であった．感受性に関しては5-FU の IC_{50}値は0.14～4.97μg/ml に分布しており MKN-1, MKN-45が比較的高感受性で MKN-7, MKN-28が低感受性であった（**Table 1**）．DPD 活性の有無別に5-FU に対する感受性と TS 活性の相関について検討すると，DPD 活性の検出された4株,

Fig. 1　Correlations between thymidylate synthase activity and sensitivity to 5-FU with or without dihydropyrimidine dehydrogenase activity. ●, cell lines without detectable dihydropyrimidine dehydrogenase activity. ○, cell lines with detectable dihydropyrimidine dehydrogenase activity.



検出されなかった４株共に5-FU に対する IC_{50}値と TS 活性との間に統計学的に有意な相関を認めた．また，DPD 活性の検出された４株は検出されなかった４株に比べ，5-FU に対して低感受性であった（**Fig. 1**）．

2．ヌードマウス可移植ヒト腫瘍

ヌードマウス可移植ヒト腫瘍においては，TS 活性，DPD 活性ともに検出可能で，TS 活性は MKN-74が最も低値で，DPD 活性は MKN-1が最も低値であった．GT3-TKB は TS 活性，DPD 活性ともに最も高値を示した．5-FU に対する感受性は MKN-74で最も高く GT 3-TKB では低感受性であった（**Table 2**）．ヌードマウス可移植ヒト腫瘍における TS 活性, DPD 活性と5-FU に対する感受性との関連では, TS 活性, DPD 活性共に 5-FU の感受性との間に相関傾向が認められた（**Fig. 2**）．

Table 2　Intracellular TS, DPD activities and sensitivity to 5-FU in humun gastric cancer cell lines xenografts

Tumor	TS (fmol/mg protein)	DPD (pmol/mg/min)	T/C[1)] (%)
MKN-1	160	9.6	44.6
MKN-74	83.1	22.3	28.1
GCIY	429	53.8	65.8
GT3TKB	2,768	74.7	84.8

1)；T/C., Treated cell/Control cell

3．胃癌腫瘍臨床検体

胃癌腫瘍組織40検体で TS 活性，DPD 活性を測定した．TS 活性は0.36～300fmol/mg protein に分布しており，中央値は18.4fmol/mg protein であった．DPD 活性は14～1,082.9pmol/mg/min に分布しており，中央値は 152.6pmol/mg/min であった．TS 活性と DPD 活性の間には関連は認められなかった（**Fig. 3**）．5-FU に対する感受性と腫瘍組織内の TS 活性，DPD 活性との関連について検討すると，DPD 活性と5-FU の感受性との間には統計学的に有意な相関が認められなたが，TS 活性と5-FU の感受性との間には関連が認められなかった（**Fig. 4**）．また，DPD の高低別に TS 活性と5-FU の感受性との関連についても検討したが，TS 活性と5-FU の感受性との間には相関を認めなかった．

考　察

進行胃癌の治療成績の向上には手術の拡大化のみならず，有効な補助療法の開発が望まれる．これまで胃癌は化学療法に対して比較的抵抗性であることが示唆されてきたが，様々な多剤併用療法の開発により，化学療法の治療成績は向上してきている．現在，欧米で

Fig. 2　Correlation between sensitivity to 5-FU and thmidylate synthase activity（A）or dihydropyrimidine dehydrogenase activity（B）in humun gastric cancer xenografts.

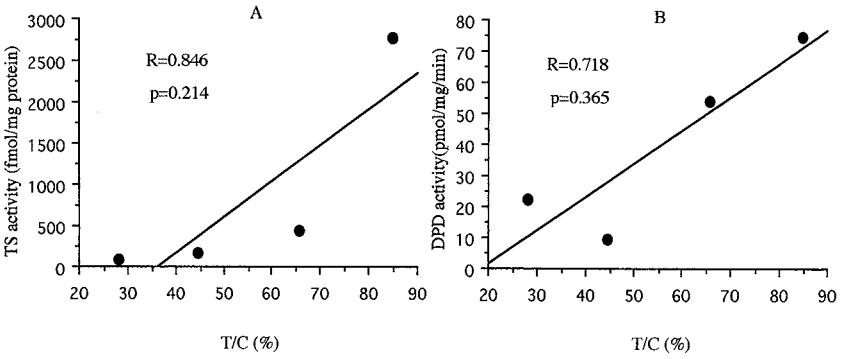
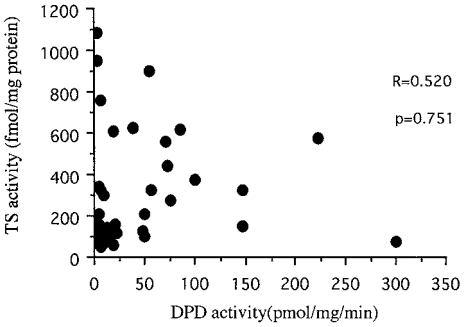


Fig. 3　Correlation between thymidilate synthase activity and dihydropyrimidine dehydrogenase activity in gastric cancer clinical sample.



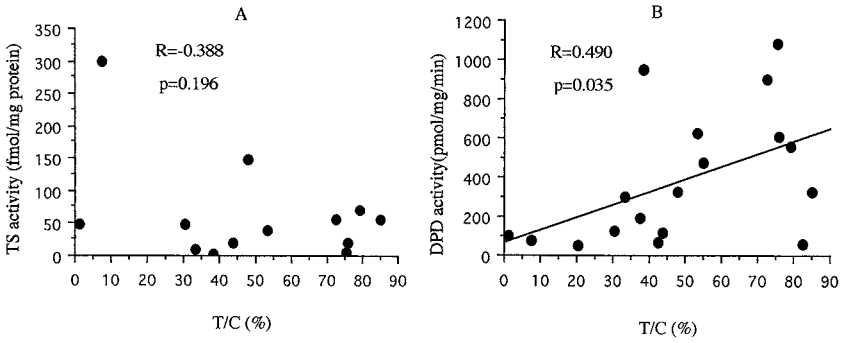
は cisplatin（CDDP）と5-FU の併用療法が胃癌に対する標準的化学療法と考えられている．一方，本邦においては5-FU の biochemical modulation の考えに基づく methoterxate（MTX）と5-FU の併用療法や低用量の CDDP と5-FU の併用療法について広範に研究されており[2)17)]，おのおの高い有効性が確認されている．しかしこのような多剤併用療法の開発によっても胃癌に対する化学療法の奏効率は概ね50%程度であり，約半数の症例では無効な治療による副作用の発現のみに苦しめられているのが現状である．そこで，進行再発胃癌に対する化学療法や，進行胃癌の術後補助化学療法において有効な症例の治療前選別が切望されている．我々はこのような目的のために，これまで in vitro の制癌剤感受性試験を開発し優れた臨床成績を報告してきた[14)18)]．しかし，細胞培養の手技を伴うこのような試験法では，細菌や真菌の contamination や，細胞増殖不良により感受性の判定ができない症例が少なからず存在することが問題とされている．そこで，胃癌化学療法において最も重要な薬剤である5-FU の抗腫瘍効果予測を目的として，細胞内 TS 活性と DPD 活性に着目し，5-FU に対する感受性と比較検討した．

TS は5-FU の DNA の合成阻害作用における key enzyme と考えられている，つまり，5-FU の代謝産物である FdUMP と還元型葉酸と TS が三元共有結合複合体を形成することにより TS 活性の機能が阻害され，DNA の前駆体であるデオキシチミジン三リン酸（dTTP）のプールが枯渇し DNA の合成阻害から細胞死に至る[3)19)]．in vitro の研究では5-FU の耐性細胞においては TS の過剰発現や活性の亢進が認められることが報告されており[20)]，TS 活性と5-FU の感受性が相関することも示唆されている[5)6)21)]．最近では，臨床例において TS 活性や発現量が5-FU による化学療法の効果[22)]や生存期間と相関する事が報告されている[23)]．

一方，生体内に投与された5-FU は DPD, dihydropyrimidinase, β-ureidopropionase という三つの酵素により，dihydrouracil, F-β-alanin にまで分解される．この際初めの二つの反応は可逆的であり，最後の反応は不可逆的で，律速酵素は DPD である[24)]．DPD 活性と5-FU の感受性に関しては，腫瘍細胞株を用いた検討により5-FU の感受性と相関すること[25)]，臨床例において DPD 活性と5-FU の抗腫瘍効果が相関することなどが報告されている[8)]．しかし，DPD 活性と5-FU の感受性に関する報告はいまだ少なく，特に胃癌におけるこれら酵素活性と5-FU の感受性に関しては報告されていない．

今回，胃癌培養細胞株を用いた検討では，DPD 活性は全体に低値をとるものの，DPD 活性の検出しえた細胞と検出されなかった細胞では，5-FU に対する感受性

Fig. 4　Correlation between sensitivity to 5-FU and thymidylate synthase activity（A）or dihydropyrimidine dehydrogenase activity（B）in humun gastric cancer.



に大きな違いが見られた．しかもDPD活性の有無別で検討すると，5-FUの感受性とTS活性には有意な相関が得られた．このことは培養細胞株において5-FUの感受性はTS活性とDPD活性の両者によって規定されることを示す結果と思われた．Beckら[25]は19種類の培養細胞株を用いて，我々と同様の方法で5-FUの感受性がTS活性，DPD活性の両者によって規定されることを報告している．我々の結果はこの報告を支持するものであり，培養細胞株という限られた条件では，5-FUの感受性はTS活性およびDPD活性によって規定されているものと思われた．

次にヌードマウス可移植ヒト腫瘍を用いて同様に5-FUの感受性とTS活性，DPD活性との関連について検討した．ヌードマウス可移植ヒト腫瘍では，TS活性，DPD活性とも4株すべてで検出可能であった．検討した腫瘍株が4株と少なかったため，統計学的に有意ではないものの，5-FUの感受性はTS活性，DPD活性の両者と相関していた．我々の研究と同様にヌードマウス可移植ヒト胃癌株，大腸癌株を用いて，TS活性，TS阻害率と5-FUの抗腫瘍効果との間に有意な相関が認められることが報告されている[26)27)]．また，DPDに関してもヌードマウス可移植腫瘍において，DPD活性，DPDmRNAの発現量が腫瘍に対する感受性と相関することが報告されている[28)]．

我々の胃癌培養株を用いた基礎的検討により，in vitroとin vivoにおいてTS活性，DPD活性の両者が5-FUの感受性を規定する因子であることが判明した．この結果を臨床に応用すべく，胃癌臨床検体腫瘍においても同様に検討したところ，DPD活性と5-FUの感受性との間には有意な相関が認められた．しかし，予想に反しTS活性と5-FUの感受性との間には有意な関連は認められなかった．その理由として考えられるのは，5-FUの薬剤接触時間による影響が考えられた．すなわち，in vitroの実験においては，基質としての5-FUが短期間に大量に存在するため，5-FUの殺細胞効果の主たる標的がRNA阻害に傾いたことにより，TS活性と5-FUの感受性との間に相関が認められなかったものと思われた[3)]．低濃度で長時間接触するような方法で感受性を判定すれば，TS活性とも相関が得られる可能性も考えられた．

いずれにせよ，DPD活性は5-FUの感受性を規定する重要な因子であり，現在，種々のDPD阻害剤が開発され[29)~31)]，5-FUとの併用による臨床試験が実施されている．我々の今回の結果は，こういったDPD阻害剤による5-FUの抗腫瘍効果増強の理論を支持するものと思われた．

結論として，TS活性，DPD活性ともに，5-FUの感受性と相関が認められることから，この両者を測定することにより，胃癌において5-FUの効果予測が可能となることが示唆された．今後，臨床例においてこれら酵素活性と治療効果との相関について検討する意義があるものと思われる．

また，最近ではRT-PCRや免疫組織化学染色により，TS, DPDのmRNAや蛋白の発現量の測定が検討されている[22)32)33)]．内視鏡下生検標本などの少量の検体で測定が可能となれば，非切除例に対する化学療法やneoadjuvant chemotherapyの治療効果予測などにも幅広く応用可能となるものと思われる．

稿を終えるにあたり，岩手医科大学第1外科　斎藤和好教授の御指導ならびに岩手医科大学医局医員および代謝研究室　佐々木尚子氏，藤原幸子氏の御協力に深謝いたします．また，TS, DPD活性の測定について御指導いただいた大鵬薬品工業株式会社，第二がん研究所福島正和氏，武知貞士氏に深謝いたします．

文　献

1）Heiderberger C, Chaudhuri NK, Duschinsky R et al：Fluorinated pyrimidines, a new class of tumor-inhibitory compounds. Nature **179**：663―666, 1957
2）小西敏郎，照屋正則，河原正樹ほか：胃癌の化学療法．癌と化療　**25**：504―515, 1998
3）Parker WB, Cheng YC：Metabolism and mechanism of action of 5-fluorouracil. Pharmacol Ther **348**：381―395, 1990
4）Moran RG, Spears CP, Heidelberger C：Biochemical determinants of tumor sensitivity to 5-fluorouracil：ultrasensitive method for etermination of 5-fluoro-2'-deoxyuridylate, 2'-deoxyuridylarte and thymidylate synthase. Proc Natl Acad Sci USA **76**：1456―1460, 1979
5）Spears CP, Gustavsson BG, Mitchell MS et al：Thymidylate synthase inhibition in malignant tumors and normal liver of patients given intravenous 5-fluorouracil. Cancer Res **44**：4144―4150, 1984
6）Peters GJ, Van Groeningen CJ, Van der Wilt CL et al：Time course of inhibition of thymidylate synthase in patients treated with fluorouracil and leucovorin. Semin Oncol **19**：26―35, 1992
7）Wei X, Mcleod HL, McMurrough J et al：Molecular basis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase defidiency and 5-fluorouracil toxicity. J

Clin Invest **98**：610—615, 1996
8) Etienne MC, Cheradame S, Fischel JL et al：Response to fluoruracil therapy in cencer patients, The role of tumoral dihydropyrimidine dehydrogenase activity. J Clin Oncol **13**：1663—1670, 1995
9) Terasima M, Ikeda K, Kawamura H et al：Establishment of an α-Fetoprotein-producing gastric cancer cell line in serum-free media. Jpn J Cancer Res **82**：883—885, 1991
10) Bradford MM：A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem **72**：248—254, 1976
11) Spears CP, Gustravsson BG：Methods for thymidylate synthase pharmacodynamics：serial biopsy, free and total TS, FdUMP and dUMP, and H_4 Pteglu and CH_2 - H_4 Pteglu assays. Edited by Rustum Y, McHuire JJ. The expanding role of folates and fluoropyrimidines in cancer chemotherapy. New York, Plenum Press, 1988, p97—104
12) Ikenaka K, Shirasaka T, Kitano S et al：Effect of uracil on metabolism of 5-fluorouracil in Vitro. Gann **70**：353—359, 1979
13) Mosmann T：Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival：application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods **65**：55—63, 1983
14) 稲葉　実：治療プロトコール．野村達次，櫻井欽夫，稲葉　実編．ヌードマウスと抗癌剤評価．蟹書房，東京，1991, p49—51
15) Kawamura H, Ikeda K, Terasima M et al：The usefulness of ATP assey with serum-free Culture for hemosensitivity testing of gastrointestinal cancer. Eur J Cancer **33**：960—966, 1997
16) Kangas L, Gronrosos M, Nieminen AL：Bioluminesence of cellular ATP, A new method for evaluating cytotoxic agents in vitro. Med Biol **62**：338—343, 1984
17) 金丸龍之介：基礎総論．金丸龍之介，小西敏郎編．BIOCHEMICAL MODULATION の基礎と臨床．医学書院，東京，1995, p3—9
18) Terasima M, Ikeda K, Kawamura H et al：A comparison study of the ATP assay in serum-free media and the adhestive tumor cell culture as a drug sensitivity test for human esophageal cancer. Cancer Res Ther Control **3**：297—301, 1993
19) Santi DV, Mehenry CS, Sommer H：Mechanism of interaction of thymidylate synthetase with 5-fluorodeoxyuridylate. Biochemistry **13**：471—481, 1974
20) Clark JL, Berger SH, Mittelman A et al：Thymidylate synthase amplification in a colon tumor resistant to fluoropyrimidine chemothrapy. Cancer Treat Rep **71**：261—265, 1987
21) Van der Wilt CL, Pinedo HM, Smid K et al：Elevation of thymidylate synthase following 5-fluorouracil treatment is prevented by the addition of leucovorin in murine colon tumors. Cancer Res **52**：4922—4928, 1992
22) Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD et al：Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach, Apredictor for primary tumor response and overall survival. J Clin Oncol **14**：176—182, 1996
23) Johnston PG, Fisher ER, Rockette HE et al：The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjvant chemotherapy in patients with rectal cancer. J Clin Oncol **12**：2640—2647, 1994
24) Diasio RA, Harris BE：Clinical Phamacology of 5-fluorouracil. Clin Phamacokinet **16**：215—237, 1989
25) Beck A, Etienne MC, Cheradame S et al：A role for dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidylate synthase in tumour sensitivity to fluorouracil. Eur J Cancer **30**：1517—1522, 1994
26) Kubota T, Fujita S, Kodaira S et al：Antitumor activity of luoropyrimidines and thymidylate synthase inhibition. Jpn J Cancer Res **82**：476—482, 1991
27) Houghton JA, Maroda SJ Jr, Phillips JO et al：Biochemical determinants of responsiveness to 5-fluorouracil and its derivatives in xenografts of human colorectal adenocarcinomas in mice. Cancer Res **41**：144—149, 1981
28) 石川洋一郎，久保田哲朗，大谷吉秀ほか：ヒト腫瘍中の dihydropyrimidine dehydrogenase およびその mRNA が5-fluorouracil 感受性におよぼす影響．日外会誌　**99**：274, 1998
29) Fischel JL, Formento P, Etienne MC et al：Dual modulation of 5-fluorouracil cytotoxicity using folinic acid with a dihydropyrimidine dehydrogenase inhibitor. Biochem Pharmacol **53**：1703—1709, 1997
30) Schilsky RL, Hohneker J, Ratain MJ et al：Phase I clinical and pharmacologic study of eniluracil plus fluorouracil in patients with advanced cancer. J Clin Oncol **16**：1450—1457, 1998
31) Shirasaka T, Nakano K, Takechi T et al：Antitumor activity of 1M tegafur-0. 4M 5-chloro-2, 4-dihydroxypyrimidine-1M potassium oxonate (S-1)

against human colon carcinoma orthotopically implanted into nude rats. Cancer Res **56**：2602—2606, 1996
32) Johnston PG, Drake JC, Trepel J et al：Immunological quantitation of thymidylate synthase using the monoclonal anibody TS 106 in 5-fluorouracil-sensitive and-resistant human cancer cell lines. Cancer Res **52**：4306—4312, 1992
33) Meinsma P, Feranandez-Salguero P, Van Kuilenburg AB et al：Human polymorphism in drug metabolism：mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene results in exon skipping and thymine uracilurea. DNA Cell Biol **14**：1—6, 1995

Prediction of 5-fluorouracil Sensibility by Measurement of Thymidylate Synthase Activity and Dihydropyrimidine Dehydrogenase Activity against Gastric Cancer

Takashi Irinoda, Masanori Terashima, Hidenobu Kawamura and Akinori Takagane
Department of Surgery 1, Iwate Medical University

In order to evaluate prediction of therapeutic efficacy by intracellular enzyme activity in gastric cancer, we investigated the role of thymidilate synthase（TS）and dihydropyrimidine dehydrogenase（DPD）activity in tumor sensitivity to 5-fluorouracil（5-FU）. We measured TS and DPD activities in 8 human gastric cancer cell lines, 4 human gastric cancer xenografts and 40 clincal samples from gastric cancer. TS and DPD activities were determined by [^{3}H]-FdUMP binding assay and thin-layer chromatography protocol, respectively. Sensitivity to 5-FU was determined by MTT assay in cell lines and by in vitro ATP assay in clinical samples. In cell lines and tumor xenografts, strong correlations between TS activity or DPD activity and 5-FU sensitivity were found. In clinical samples, a statistically significant correlation between DPD activity and in vitro senstivity to 5-FU also was found. These results suggest that senstivity to 5-FU is predictable by measurement of both TS activity and DPD activit.

Reprint requests：Takashi Irinoda Department of Surgery 1, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, 020-8505 JAPAN