

原著

# 大腸癌組織中Orotate phosphoribosyltransferase mRNA発現と臨床病理学的因子および5-Fluorouracil系抗癌剤の臨床的効果との関係

埼玉医科大学総合医療センター消化管・一般外科<sup>1)</sup>, 同 肝胆膵・小児外科<sup>2)</sup>

石田 秀行<sup>1)</sup> 白川 一男<sup>2)</sup> 大澤 智徳<sup>1)</sup>  
岡田 典倫<sup>1)</sup> 中田 博<sup>1)</sup> 横山 勝<sup>1)</sup>  
猪熊 滋久<sup>1)</sup> 橋本 大定<sup>2)</sup>

## Expression Level of Orotate Phosphoribosyltransferase mRNA in Colorectal Cancer : Correlation with Clinicopathological Factors and Clinical Efficacy of 5-fluorouracil-based Chemotherapy

Hideyuki ISHIDA, Kazuo SHIRAKAWA, Tomonori OHSAWA,  
Norimichi OKADA, Hiroshi NAKADA, Masaru YOKOYAMA,  
Shigehisa INOKUMA and Daijo HASHIMOTO

*Department of Digestive Tract and General Surgery<sup>1)</sup> and Department of Hepato-Biliary-Pancreatic and Pediatric Surgery<sup>2)</sup>, Saitama Medical Center, Saitama Medical School*

5-Fluorouracil (FU) のリン酸化に最も重要なOrotate phosphoribosyltransferase (OPRT) の大腸癌組織中 mRNA発現と臨床病理学的因子との関係および、5-FU系抗癌剤の臨床効果との関係について検討した。大腸癌および正常大腸粘膜のOPRT mRNA発現を $\beta$ -actinを内部標準とした半定量的RT-PCR法で求めた。癌部と正常粘膜の間でOPRT mRNAの発現に差はなく ( $n=22$ ,  $p=0.98$ )、癌部のOPRT mRNA発現と臨床病理学的諸因子との関連も認められなかった ( $n=22$ )。転移・再発大腸癌のうち、5-FU系抗癌剤の有効例 (CR+PR,  $n=12$ ) と無効例 (SD+PD),  $n=16$ ) の間でOPRT mRNAの発現に差はなかった ( $p=0.98$ )。OPRT mRNAの高発現群 ( $n=7$ ) と低発現群 ( $n=21$ ) (cutoff: 1.2) に分けて検討しても、progression-free survivalに差はみられなかった ( $p=0.69$ )。以上から、大腸癌におけるOPRT mRNA発現と臨床病理学的因子との関係は乏しく、その発現レベルのみから5-FU系抗癌剤の効果を予測することは困難であることが示唆された。

**索引用語**：大腸癌 (colorectal cancer), オロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (orotate phosphoribosyltransferase), 5-フルオロウラシル (5-fluorouracil)

### はじめに

Orotate phosphoribosyltransferase (以下、OPRT)は、生体内でピリミジンの*de novo*生合成経路をつかさどる酵素である。また、5-FUをリン酸化する3経路のなかではもっとも重要な酵素と

考えられている<sup>1)~3)</sup>。すなわち、5-FUを5-fluorouridine monophosphate (FUMP) に転換することにより、DNA合成阻害およびRNA機能障害の両方に関わる。近年大腸癌組織中のOPRT活性やOPRT mRNA発現レベルと5-Fluorouracil (FU) の感受性 (抗腫瘍効果) との関係が報告されてい

Table 1 Profile of patients whose colorectal cancer and normal colonic mucosa were evaluated in relation to gene expression of orotate phosphoribosyltransferase (OPRT).

Case	Age (Years)	Sex	Dukes' classification	Site	Macroscopic feature	Depth of invasion	Histological differentiation*	Size (mm)	Lymphatic invasion*	Venous invasion*
1	36	Female	C	Rectum	2	pT3	mod	90	ly 1	v 0
2	48	Male	C	Rectum	2	pT3	mod	57	ly 1	v 0
3	50	Male	B	Rectum	2	pT3	wel	50	ly 0	v 0
4	50	Female	D	Colon	4	pT3	mod	55	ly 3	v 3
5	51	Male	C	Rectum	0	pT1	mod	12	ly 0	v 1
6	53	Female	D	Colon	2	pT3	mod	30	ly 2	v 1
7	54	Male	B	Rectum	2	pT3	mod	70	ly 0	v 0
8	54	Male	C	Rectum	2	pT3	mod	40	ly 1	v 2
9	62	Male	C	Rectum	1	pT3	mod	22	ly 0	v 1
10	63	Female	C	Rectum	2	pT3	mod	22	ly 3	v 2
11	65	Male	A	Colon	2	pT2	wel	38	ly 0	v 0
12	65	Male	A	Colon	0	pT1	wel	30	ly 0	v 0
13	66	Male	C	Rectum	2	pT3	mod	40	ly 1	v 1
14	66	Male	C	Rectum	3	pT3	por	50	ly 3	v 2
15	67	Male	D	Colon	2	pT3	mod	35	ly 2	v 2
16	68	Female	A	Rectum	2	pT2	wel	30	ly 0	v 0
17	70	Male	B	Rectum	2	pT3	wel	75	ly 0	v 0
18	70	Female	B	Colon	3	pT3	mod	70	ly 0	v 0
19	70	Male	D	Colon	3	pT3	mod	45	ly 1	v 1
20	71	Male	C	Rectum	2	pT3	mod	70	ly 0	v 0
21	75	Male	B	Colon	1	pT3	wel	34	ly 0	v 0
22	75	Male	D	Colon	2	pT3	mod	10	ly 2	v 2

\*: Classified according to Japanese Classification of Colorectal Carcinoma (Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum, First English Edition, Kanehara, Tokyo, 1997) .mod: moderately differentiated, wel: well-differentiated, por: poorly differentiated

Table 2 Background data of colorectal cancer patients who received 5-fluorouracil (FU)-based treatment

Mean age (range):62.5 (41-72)  
 Sex: Male/Female=12/16  
 Primary lesion:Colon/Rectum=13/15  
 Non-curative/Recurrent=27/1  
 Type of treatment: 5-FU+leucovorin+UFT,23; Hepatic arterial infusion with 5-FU,5  
 Target lesions according to RECIST classification  
 Liver,21; Liver+lungs,1; Liver+lymph node,2; Lymph nodes,2; Local (Intrapelvic),2  
 Response: CR/PR/SD/PD=1/11/7/9

RECIST:Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

るが<sup>4)~7)</sup>、いまだに十分な検討はなされていない。

今回、大腸癌組織中のOPRT mRNA発現レベルと臨床病理学的因子との関連、および5-FU系抗癌剤の抗腫瘍効果との関連の2点について検討したので報告する。

## 対象と方法

**検討1** : 当科で1996年10月から2003年4月の間に原発巣が切除され、その組織が直ちに-70℃で凍結保存されていた大腸癌410例のうち、無作為に22例を選択し、腫瘍部と隣接正常粘膜のOPRT

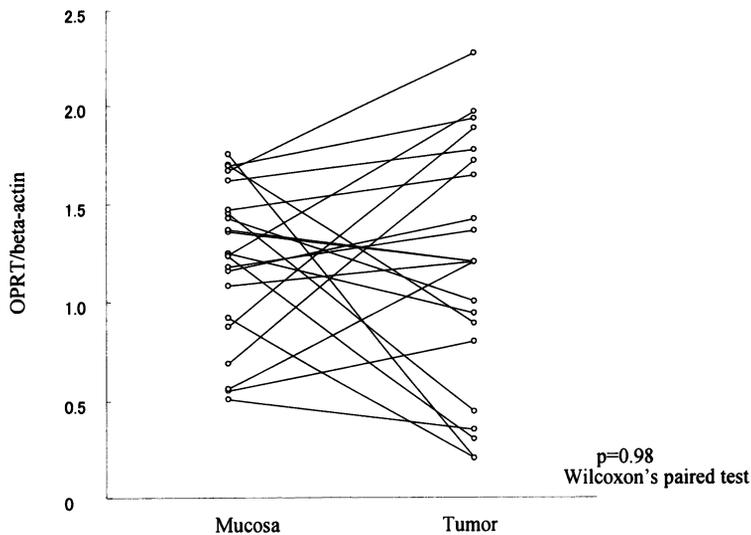


Fig. 1a Comparison of relative expression level of orotate phosphoribosyltransferase (OPRT) mRNA between colorectal cancer and corresponding normal colonic mucosa (n=22).

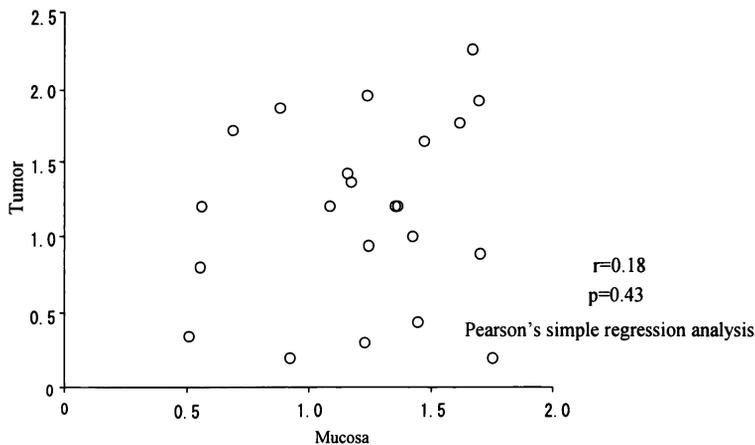


Fig. 1b There was no significant relationship between colorectal cancer and corresponding normal colonic mucosa in terms of relative expression levels of orotate phosphoribosyltransferase (OPRT) mRNA (OPRT/beta-actin) (n=22).

mRNAの発現を半定量した。22例の年齢、性別、最大腫瘍径、肉眼型、組織学的壁深達度、組織型、Dukes'分類、ly因子、v因子などの臨床病理学的諸因子についてTable 1に示した。

**検討2**：検討1で検討した22例の原発巣におけるOPRT mRNA発現と、Table 1で示した臨床病理学的諸因子との関係を検討した。

**検討3**：5-FU系抗癌剤の前治療のない非治癒切除27例（検討1、2のうち、Dukes' Dの5例を含む）および再発大腸癌1例の合計28例の原発巣のOPRT mRNA発現と、RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) 分類<sup>8)</sup>に従った5-FU系抗癌剤の抗腫瘍効果との関係について検討した。また、検討2で得られたOPRT

Table 3 Relative expression of orotate phosphoribosyltransferase (OPRT) mRNA according to various clinicopathological factors

Variables	Relative OPRT expression	p-value
<b>Age</b>		
>=65 (n=12)	1.1 ± 0.2	
< 65 (n=10)	1.1 ± 0.2	0.60
<b>Sex</b>		
Male (n=16)	1.2 ± 0.2	
Female (n=6)	1.2 ± 0.2	0.77
<b>Dukes' classification</b>		
A (n=3)	1.0 ± 0.4	
B (n=5)	1.3 ± 0.2	
C (n=9)	1.3 ± 0.2	
D (n=5)	0.9 ± 0.3	0.68
<b>Site of primary lesion</b>		
Colon (n=9)	1.0 ± 0.2	
Rectum (n=13)	1.3 ± 0.2	0.30
<b>Macroscopic feature</b>		
Type 0,1,2(n=18)	1.1 ± 0.2	
Type 3(n=4)	1.4 ± 0.3	0.42
<b>Depth of invasion*</b>		
pT1/pT2 (n=4)	1.3 ± 0.4	
pT3/pT4 (n=18)	1.1 ± 0.1	0.73
<b>Histological differentiation</b>		
Well-diff. (n=6)	1.0 ± 0.2	
Moderately or poorly diff. (n=16)	1.2 ± 0.2	0.44
<b>Maximal diameter of tumor</b>		
>=45 mm (n=10)	1.3 ± 0.2	
<45 mm (n=12)	1.1 ± 0.2	0.29
<b>Lymphatic invasion</b>		
Positive (n=11)	1.0 ± 0.2	
Negative (n=11)	1.4 ± 0.2	0.11
<b>Venous invasion</b>		
Positive (n=11)	1.4 ± 0.2	
Negative (n=11)	1.2 ± 0.2	0.58

\*:TNM classification, mean±standard error, One-way analysis of variance (ANOVA) or Mann-Whitney test

mRNA発現の中央値をcutoffとしてOPRT mRNAの発現を高低の2群に分け、progression-free survivalを比較した。検討3の28例のRECIST分類<sup>8)</sup>に従った標的病変や抗腫瘍効果を含めた背景因子についてはTable 2に示した。5-FU+leucovorin+UFT療法では既報<sup>9)</sup>のごとく、5-FU 400-500mg/m<sup>2</sup>/2hrとleucovorin (アイソボリン注<sup>®</sup>, ワイス・レダリー) 200-250mg/m<sup>2</sup>の点滴静注(週1回, 3回連続の後, 1週休薬, 以降

可能な限り,あるいはPDが確認されるまで繰り返し)に, tegafur+uracil (UFTまたはUFT-E-) (ユーエフティー<sup>®</sup>, またはユーエフティー・E<sup>®</sup>, 大鵬薬品工業) 300-400mg/body/dayの連日投与を行った。また5-FU肝動注の症例では, 週1-2回, 500mg/body/1hrの肝動注にdoxifluridine(フルツロン<sup>®</sup>, 中外製薬) 600-800mg/bodyの連日経口投与を行った。両治療とも治療開始8週以降, RECIST分類<sup>8)</sup>による抗腫瘍効果の評価を行った。

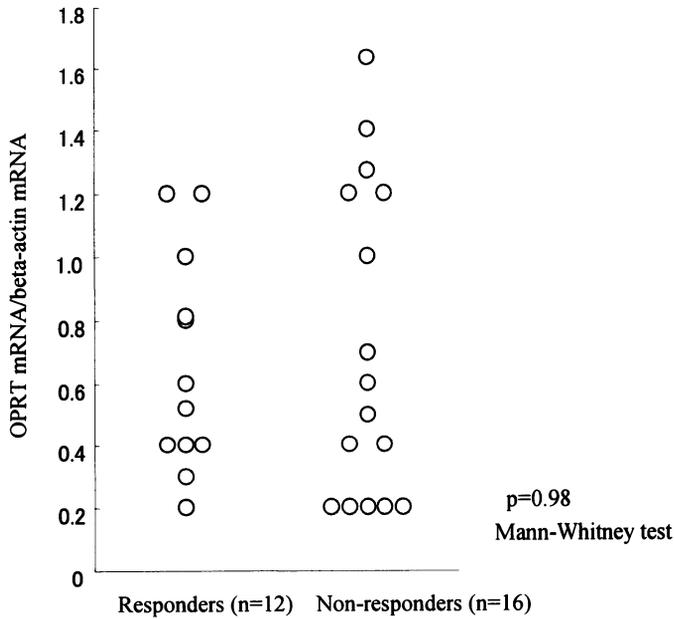


Fig. 2a Relative expression levels of orotate phosphoribosyltransferase (OPRT) mRNA according to response to 5-fluorouracil-based treatment.

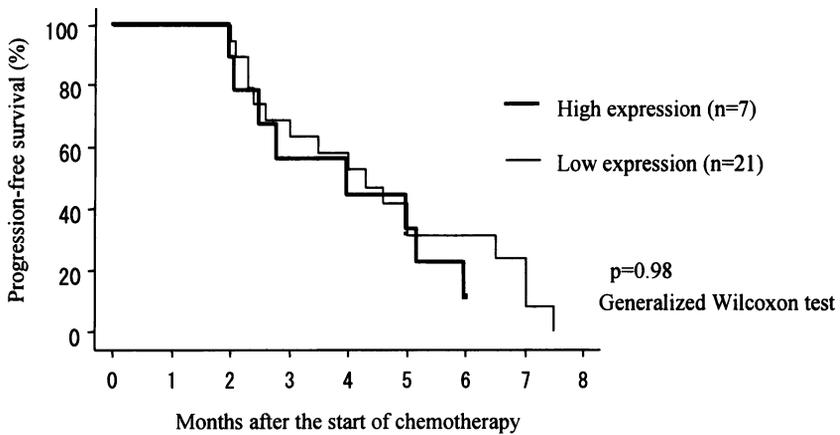


Fig. 2b Progression-free survival according to the relative expression levels of orotate phosphoribosyltransferase (OPRT) mRNA. The cutoff value of relative OPRT mRNA expression (OPRT/beta-actin) was determined as 1.2, based on the median value of OPRT mRNA expression of colorectal cancer specimens (n=22). High expression :  $\geq 1.2$ ; Low expression :  $< 1.2$

**OPRT mRNAの半定量**： $\beta$ -actinを内部標準とした半定量的RT (reverse transcriptional) - PCR (polymerase chain reaction) 法でOPRT mRNAの発現量を算出した。すなわち原発巣の切

除後、ただちに $-70^{\circ}\text{C}$ で凍結保存してあった新鮮凍結大腸癌腫瘍部と隣接正常粘膜を検査材料とした。各検査材料300-500mgから塩酸グアニジン・フェノール・クロロフォルム法を用いてtotal RNA

を抽出した後、逆転写法にてcomplementary DNAを合成した。PCRにはthermal cycler (Takara)を用い、94°C30秒(denaturation)、54°C30秒(annealing)、72°C45秒(extension)の条件で、30、32、34サイクル行った。増幅されたDNAの同定は2.0%アガロースゲル電気泳動法で行った。なお、ヒトOPRT mRNAに特異的なprimerとして sense 5'-AGTGGATCTAGTGTTTTGGGA-3', antisense 5'-GCAAACCTCCGGTCTTCAA-3'を用いた。あらかじめ10検体で上記のPCRを行い、PCR産物のsequenceを確認してOPRT mRNAに特異的であることを確認した。OPRT mRNA発現量の測定値(半定量)は、内部標準に用いた $\beta$ -actin mRNAの発現量で除した相対値として算出した(32サイクル)。なお、あらかじめ患者本人から研究に対するinformed consentを取得した。

**統計**：Dataは平均±標準誤差で表した。paired dataの比較にはWilcoxon's paired testを、unpaired dataの比較にはMann-Whitney testあるいはOne-way analysis of variance (ANOVA)を用いた。相関の解析にはPearson's simple regression analysisを用いた。Disease-free survival curveはKaplan-Meier法で表し、その比較にはgeneralized Wilcoxon testを用いた。すべての解析で、 $p < 0.05$ をもって有意とした。

## 結 果

**検討1**：OPRT mRNAの発現レベルは隣接正常大腸粘膜が $1.2 \pm 0.4$ に対し、癌部では $1.2 \pm 0.6$ であり、正常大腸粘膜と癌部の間で有意差を認めなかった( $p = 0.98$ ) (Fig. 1a)。また、正常大腸粘膜と癌部の間で有意な相関関係を認めなかった( $p = 0.43$ ,  $r = 0.18$ ) (Fig. 1b)。

**検討2**：原発巣のOPRT mRNA発現と、検討したいずれの臨床病理学的因子の間にも有意な関連は認めなかった (Table 3)

**検討3**：有効例(CR+PR,  $n = 12$ )の原発巣におけるOPRT mRNAレベルが $0.65 \pm 0.10$ であるのに対し、無効例(SD+PD,  $n = 16$ )のそれは $0.71 \pm 0.13$ であり、有効例と無効例の間でOPRT mRNA発現レベルに有意差を認めなかった ( $p =$

$0.98$ ) (Fig. 2a)。また、検討2の大腸癌22例のOPRT mRNAレベルの中央値が1.2あったため、これをcutoff値として、検討3の症例をOPRT mRNAが高発現( $n = 7$ )と低発現( $n = 21$ )に分け、progression-free survivalを比較したが、両群の生存期間に有意差はみられなかった ( $p = 0.69$ ) (Fig. 2b)。

## 考 察

今回の検討ではまず、OPRT mRNAの発現を正常大腸粘膜と癌部で比較したうえ、癌部における発現と臨床病理学的諸因子との関連性についても検討した。5-FU系抗癌剤の抗腫瘍効果に関連する酵素のmRNA発現の正常大腸粘膜と癌部との違いの有無を知ることは重要である。例えばHottaら<sup>10)</sup>は、OPRT以外に5-FUをリン酸化する酵素のひとつであるthymidine phosphorylase (TP)は癌部でより発現が亢進し、しかも正常粘膜と癌の発現の間に正の相関があることを報告している。また、5-FUを分解する律速酵素であるDihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)<sup>11)</sup>のmRNA発現については癌部より正常大腸粘膜の方が有意に高いという報告が散見される<sup>12)13)</sup>。今回得られたOPRT mRNA発現の比較では、癌部と粘膜の間で差がなく、結果的には特別な意義は持たないが、貴重な資料になり得ると思われる。

今回の検討では、癌部のOPRT mRNA発現と臨床病理学的因子についても特別な関係は認められなかった。大腸癌組織のDPDについて、壁深達度が深くなるにつれ、またリンパ節転移陰性例より陽性例の方がmRNA発現が高いことが報告されている<sup>14)</sup>。仮にOPRT mRNA発現も癌の進展や性質によって影響を受ける場合には、5-FU系抗癌剤を用いた化学療法を行う際には注意が必要であるが、今回の検討からはそのような必要がないことが示唆された。大腸癌におけるOPRT mRNA発現と臨床病理学的因子について検討した報告は、今回の報告を除いては見あたらなかった。ちなみに、落合ら<sup>15)</sup>、上村ら<sup>16)</sup>はOPRT活性と臨床病理学的因子との関係はないと報告している。一方、竹村ら<sup>17)</sup>は男性が女性より、粘液癌が他の分化型腺癌より有意に癌部のOPRT活性が高いと報告し

ている。

Isshiら<sup>5)</sup>は、OPRTとDPDが逆相関することが確認されている大腸癌臨床検体を用いた検討において、OPRT活性高値かつDPD活性低値の組み合わせで、88.9%の5-FUの*in vitro* chemosensitivityが得られるとしている。Ichikawaら<sup>7)</sup>はUFT+leucovorinの投与を受けた転移を有する大腸癌37例において、原発巣のOPRT mRNAが高発現、あるいはOPRTとDPDのmRNA発現比が高い場合、5-FU系抗癌剤の効果予測因子になることを報告している。興味深いことに、Ichikawaら<sup>7)</sup>の検討材料でもOPRT mRNA発現とDPD mRNA発現が逆相関している。すなわち、5-FU系抗癌剤の効果が期待されるのはOPRT mRNA発現が高いだけでなく、そのbackgroundには5-FUを分解する律速酵素であるDPD mRNAも低いことにも注意が必要であり、OPRT mRNA発現が単独に5-FU系抗癌剤の効果を規定するかどうかについてはさらなる検討が必要と思われる。ちなみに、Inokuchiら<sup>18)</sup>は、大腸癌23例の原発巣および肝転移巣のいずれでも、OPRT mRNA発現とDPD mRNA発現には有意な相関はないと報告している。

今回の検討では5-FUの有効例と無効例の間でOPRT mRNAの発現レベルは相当overlapしていた。また、OPRT mRNAの発現の高低でprogression-free survivalを比較した場合でも、2群間で生存曲線が重なっていた。したがって、今後症例数を増やして再検討してみても、原発巣のOPRT mRNA発現レベルのみから、再発・非治癒切除大腸癌に対する5-FU系抗癌剤の抗腫瘍効果を予測するのは困難であるという結論になる可能性が高い。

今回の検討は以下の点でさらなる検討の余地が残されている。まず第1に、OPRT mRNAの発現のみに的を絞ったため、5-FUの抗腫瘍効果に関連する他の酵素(DPD, TP, thymidine synthaseなど)のmRNA発現については検討しなかったことである。この点については今後の研究課題とした。第2に、OPRT mRNAの発現レベルとOPRT活性は必ずしも相関しない可能性があることである。この点について、落合ら<sup>19)</sup>は検討例数が10例と

少ないものの、大腸癌部のOPRT mRNA発現とOPRT活性の間には有意な相関がないと報告している。第3に癌部のOPRT mRNA発現には間質の正常細胞の混入が避けられず、近年発達したlaser captured microdissection法<sup>20)21)</sup>によるmRNA発現の解析に比べ、精度が落ちる、などの点があげられる。しかしながら、DPD発現のように5-FU系抗癌剤の抗腫瘍効果との関係にほぼコンセンサスが得られているのと異なり、OPRTについては報告がきわめて少なく、いまだにコンセンサスは得られていない。しかも大腸癌切除材料を用いて5-FUの臨床効果を検討した報告自体がきわめて少ないのが現状である。この点、今回の結果は貴重な資料になると考えられたので報告した。

#### 参考文献

- 1) 福島正和, 野村裕子, 村上裕子他: ヒト癌細胞における5-FUリン酸化経路の解析. 癌と化療23: 721-731, 1996
- 2) Fukushima M, Nomura H, Murakami Y, et al: Estimation of pathways of 5-fluorouracil anabolism in human cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Jpn J Cancer Chemother 23: 721-73, 1996
- 3) Inaba M, Mitsushashi J, Sawada H, et al: Reduced activity of anabolizing enzymes in 5-fluorouracil resistant human stomach cancer cells. Jpn J Cancer Res 87: 212-220, 1996
- 4) 落合 匠, 杉谷通治, 西村和彦他: 大腸癌におけるOrotate Phosphoribosyl Transferase (OPRT), Thymidylate Synthase (TS), Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) の発現とCD-DST法 (Collagen gel Droplet embedded culture Drug Sensitivity Test) による5-FU感受性試験との関連についての検討. 癌と化療28: 661-667, 2001
- 5) Isshi K, Sakuyama T, Gen T, et al: Predicting 5-FU sensitivity using human colorectal cancer specimens: comparison of tumor dihydropyrimidine dehydrogenase and orotate phosphoribosyl transferase activities with *in vitro* chemosensitivity to 5-FU. Int J Clin Oncol 7: 335-342, 2002

- 6) Fujii R, Seshimo A, Kameoka S: Relationships between the expression of thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase, and orotate phosphoribosyltransferase and cell proliferative activity and 5-fluorouracil sensitivity in colorectal carcinoma. *Int J Clin Oncol* 8: 72-78, 2003
- 7) Ichikawa W, Uetake H, Shirota Y, et al: Both gene expression for orotate phosphoribosyltransferase and its ratio to dihydropyrimidine dehydrogenase influence outcome following fluoropyrimidine-based chemotherapy for metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 89: 1486-92, 2003
- 8) Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA et al: New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 92: 205-216, 2000
- 9) 石田秀行, 猪熊滋久, 中田 博他: 進行・再発大腸癌に対する5-FU+LV+UFT療法. 第14回関越UFT研究会講演集 癌と化学療法社, 東京, p.69-71, 2001
- 10) Hotta T, Taniguchi K, Kobayashi Y, et al: Increased expression of thymidine phosphorylase in tumor tissue in proportion to TP-expression in primary normal tissue. *Oncol Rep* 12: 539-541, 2004
- 11) Heggie GD, Sommadossi JP, Cross DS, et al: Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine, and bile. *Cancer Res* 47: 2203-2206, 1987
- 12) Uetake H, Ichikawa W, Takechi T, et al: Relationship between intratumoral dihydropyrimidine dehydrogenase activity and gene expression in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 5: 2816-2819, 1999
- 13) Johnston SJ, Ridge SA, Cassidy J, et al: Regulation of dihydropyrimidine dehydrogenase in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 5: 2566-2570, 1999
- 14) Shirota Y, Ichikawa W, Uetake H, et al: Intratumoral dihydropyrimidine dehydrogenase messenger RNA level reflects tumor progression in human colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 9: 599-603, 2002
- 15) 落合 匠, 杉谷通治, 西村一彦他: 大腸癌におけるOrotate Phosphoribosyl Transferase (OPRT), Thymidylate synthase (TS), Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) の発現と臨床病理学的背景因子に関する検討. 癌と化療29: 413-420, 2002
- 16) 上村佳央, 小林研二, 青木太郎他: 大腸癌におけるOrotate Phosphoribosyl Transferase (OPRT), Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 活性の関連性と臨床病理学的因子に関する検討. 癌の臨49: 1425-1429, 2003
- 17) 竹村雅至, 大杉治司, 李 栄注他: 大腸癌組織中DPD・OPRT活性からみた大腸癌に対する化学療法. 癌と化療31: 1053-1056, 2004
- 18) Inokuchi M, Uetake H, Shirota Y, et al: Gene expression of 5-fluorouracil metabolic enzymes in primary colorectal cancer and corresponding liver metastasis. *Cancer Chemother Pharmacol* 53: 391-396, 2004
- 19) 落合 匠, 杉谷通治, 西村和彦他: 大腸癌におけるOrotate Phosphoribosyl Transferase (OPRT) 活性とOPRT mRNA発現量の相関についての検討. 癌と化療29: 2515-2519, 2002
- 20) Jakob C, Aust DE, Meyer W, et al: Thymidylate synthase, thymidine phosphorylase, dihydropyrimidine dehydrogenase expression, and histological tumor regression after 5-FU-based neoadjuvant chemotherapy in rectal cancer. *J Pathol* 204: 562-568, 2004
- 21) Salonga D, Danenberg KD, Johnson M, et al: Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin Cancer Res* 6: 1322-1327, 2000