The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Cyclooxygenase-2 inhibitors suppress the growth of gastric cancer xenografts via induction of apoptosis in nude mice
Author(s)	澤岡, 均
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41278
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 111 】

氏　　名	澤　岡　　均（さわ　おか　ひとし）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　14305　号
学位授与年月日	平成11年3月3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	Cyclooxygenase-2 inhibitors suppress the growth of gastric cancer xenografts via induction of apoptosis in nude mice. (移植ヒト胃癌細胞に対するアポトーシス誘導によるcyclo-oxygenase-2阻害剤の腫瘍増殖抑制効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀　正二 (副査) 教 授 松澤　佑次　　教 授 門田　守人

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

cyclooxygenase (COX) はプロスタグランディン合成の律速酵素であるが，2つのisozymeすなわち，恒常的に発現しているCOX-1と誘導型のCOX-2が存在していることが明らかになった。最近，ヒト大腸癌組織においてCOX-2が強発現していることが報告された。また，ヒトにおいてCOX阻害剤である非ステロイド系消炎鎮痛剤(NSAIDs)を服用している群では非服用群に比し，大腸癌の発生率と大腸癌による死亡率が有意に低いという報告がみられる。一方，胃癌は日本において癌死の第2位を占め，年間30000人以上の患者が死亡しているが，胃癌におけるCOX-2の作用は不明である。そこでCOX-2特異的阻害剤NS-398と非特異的阻害剤Indomethacinを用いて，胃癌細胞移植腫瘍増殖に与える影響を *in vivo* で検討し，胃癌におけるCOX-2の役割を明らかにせんとした。

【方法】

(1) COX-2を強発現しているヒト胃癌由来細胞株MKN45 (5×10^6 個) をヌードマウスに移植した。NS-398 (10, 30, 100 mg/kg)，Indomethacin (0.3, 1, 3 mg/kg) を連日経口投与し，20日後の腫瘍増殖率を測定した。その後腫瘍を摘出し，以下の検討に供した。また，10日間vehicleのみを投与し腫瘍を確立した後，NS-398 (100 mg/kg) を10日間連日経口投与した腫瘍の増殖率もあわせて検討した。

(2) 20日後に腫瘍を摘出し，以下の検討を行った。

1) 腫瘍のCOX-2の発現を免疫組織化学染色にて同定した。

2) 腫瘍内でアポトーシスをおこした細胞を電子顕微鏡にて確認し，TUNEL法でその数を計測した。

3) 腫瘍の細胞増殖をBrdU染色法を用いて検討した。

4) 腫瘍のHE染色標本によりnecrosisの程度を検討した。

5) 細胞増殖とアポトーシスが腫瘍の増殖におよぼす影響を調べるため，BrdU陽性細胞数と腫瘍体積の相関とアポトーシス細胞数と腫瘍体積の相関を解析した。

6) 経口投与したNS-398, Indomethacinが腫瘍内のCOXに作用しているかどうかを検討するため，腫瘍組織内の

プロスタグランディンE_2量をRIA法にて測定した。

(3) NS-398，Indomethacinが肺，食道，胃，小腸，肝，腎におよぼす影響を調べるため，これらの臓器を摘出し，HE染色による組織学的検討とTUNEL法によるアポトーシスをおこした細胞数の計測を行った。

【成績】

(1) NS-398 (10，30，100 mg/kg)，Indomethacin (0.3，1，3 mg/kg) は腫瘍の増殖を有意に抑制し，20日後の抑制率は体積比でそれぞれ対照 (924±182 mm^3) の65%，79%，91%，64%，82%，88%であった。また，腫瘍を確立した後にNS-398を投与しても，NS-398は腫瘍の増殖を対照の60%に抑制した。

(2.1) COX-2は腫瘍細胞の核周辺部に発現がみられた。

(2.2) 電子顕微鏡による観察では，腫瘍細胞に凝縮した核や収縮した細胞を認め，腫瘍細胞がアポトーシスをおこしていることが示された。アポトーシスをおこした細胞数はそれぞれ対照(0.86±0.25%)の2.3倍，2.7倍，4.5倍，2.5倍，3.2倍，3.8倍であり，NS-398，Indomethacinは腫瘍細胞にアポトーシスを誘導した。

(2.3) BrdU陽性細胞数はそれぞれ対照(35.1±1.2%)の88%，81%，73%，89%，81%，76%であり，NS-398，Indomethacinは腫瘍細胞の細胞増殖を有意に抑制した。

(2.4) 腫瘍組織のnecrosisの程度は対照群，NS-398群，Indomethacin群で有意差はみられなかった。

(2.5) BrdU陽性細胞数と腫瘍の体積の間には正の相関が，アポトーシス細胞数と腫瘍の体積の間には負の相関があった。

(2.6) NS-398，Indomethacinは濃度依存性に腫瘍のプロスタグランディンE_2合成を有意に抑制した。

(3) 胃癌細胞移植ヌードマウスの肺，食道，胃，小腸，肝，腎には，対照群，NS-398，Indomethacin投与群において組織学的に病的変化はみられず，またアポトーシスをおこした細胞はほとんどみられなかった（1視野あたり1個以下)。

【総括】

ヌードマウスにMKN45細胞を移植した腫瘍において，COX-2阻害剤の投与により腫瘍の著明な増殖抑制がみられた。その機序として，COX-2阻害剤は細胞増殖を抑制し，アポトーシスを誘導することで腫瘍増殖を抑制することが明らかになった。これらの結果よりCOX-2の発現が胃癌の進展に重要な役割を演じており，COX-2阻害剤は臨床において胃癌発育の抑制制御の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究論文はcyclooxygenase-2 (COX-2) 阻害剤を用いて，移植ヒト胃癌腫瘍の増殖に対するCOX-2の役割を詳細に検討したものである。近年，非ステロイド系消炎鎮痛剤が胃・大腸癌の発生率やそれによる死亡率を低下させると報告されている。そこで，胃癌組織におけるCOX-2の発現を検討すると，高頻度に強発現がみられた。本研究ではCOX-2を強発現している胃癌細胞をヌードマウスに移植し，COX-2阻害剤を経口投与して腫瘍の増殖に与える影響とその作用機序を検討した。その結果，COX-2阻害剤の投与に伴い，腫瘍細胞のプログラム細胞死の促進と，細胞増殖抑制がみられることを見出し，腫瘍の増大が抑制されるという新知見を導いた。さらに，COX-2特異的阻害剤は腫瘍の増大は抑制するが，正常組織には影響を与えなかったという結果を得，COX-2特異的阻害剤の治療への応用の可能性が示された。腫瘍増殖におけるCOX-2の重要性とその作用機序を解明したという点で本研究は非常に意義深い。

本研究はCOX-2を介した癌の増殖の機能を明らかにし，今後の癌の治療の進展に向けた重要な情報を与えるものであり，学位の授与に値すると考えられる。