



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

氏 名	澤 均 ^{さわ ひとし}
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 3 0 5 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 cyclooxygenase-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) はプロスタグランジ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

プロスタグランジン E₂ 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 ($924 \pm 182 \text{ mm}^3$) 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 ($0.86 \pm 0.25\%$) 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 ($35.1 \pm 1.2\%$) 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ジン E₂ 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。