

Title	Differential Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Human Bile Duct Epithelial Cells and Bile Duct Neoplasm
Author(s)	林, 伸泰
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43962">https://hdl.handle.net/11094/43962</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	はやし 林 のぶ 伸 やす 泰
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17669 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Differential Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Human Bile Duct Epithelial Cells and Bile Duct Neoplasm (ヒト胆管上皮と胆道悪性疾患におけるサイクロオキシゲナーゼ-2 の発現)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人  (副査) 教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎

#### 論文内容の要旨

【目的】サイクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) はアラキドン酸からプロスタグランジン、トロンボキサンを合成する代謝経路の key enzyme で種々の生理作用に関与する。各種の炎症性疾患のみならず、腫瘍においても COX-2 の発現増加が報告され、その阻害は動物モデルでの発癌抑制や癌細胞の増殖抑制を示し、COX-2 が癌の発生・進展に関与する可能性が示唆されている。本研究では炎症がその発生母地として注目されている胆管系悪性腫瘍において、COX-2 発現の意義を検討した。

【方法】1) COX-2 蛋白発現性の検討：外科的切除によって得られた肝内胆管癌 (CCC) 13 例、肝外胆管癌 (BDC) 22 例、胆嚢癌 (GBC) 9 例、針生検と剖検組織より得られた原発性硬化性胆管炎 (PSC) 7 例、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 15 例を対象とした。パラフィン包埋切片を用いて、ラビットポリクローナル抗ヒト COX-2 抗体 (IBL 社) を用いた免疫組織染色にて COX-2 蛋白発現性 (癌部、非癌部炎症部、および非癌部非炎症部) を検討した。COX-2 発現は客観的に判定可能なコンピュータ画像解析ソフト (MacScope™) を用い数値化した。同一切片に含まれる正常肝細胞あるいは正常胆管の間質をバックグラウンドとして、対象となる部位の実測数値から subtraction した。2) COX-2 阻害剤の胆管癌細胞に及ぼす影響：胆管系癌細胞株 [HuCC-T1 (肝内胆管癌)、TFK-1 (肝外胆管癌)、Mz-ChA-1 (胆嚢癌)] における COX-2 選択的阻害剤 (NS398、JTE-522) および非特異的 COX 阻害剤 (インドメタシン) による細胞増殖に及ぼす影響を検討した。

【成績】1) CCC、BDC における各組織での COX-2 染色強度は癌部 ( $66.9 \pm 12.6$ 、 $64.2 \pm 12.4$ )、非癌部炎症胆管粘膜 ( $46.8 \pm 8.6$ 、 $35.0 \pm 10.1$ )、非癌部非炎症胆管粘膜 ( $35.8 \pm 9.0$ 、 $23.4 \pm 10.5$ ) であり、両腫瘍における 3 組織間で有意差が見られた ( $P < 0.05$ )。GBC における癌組織での COX-2 染色強度 ( $53.1 \pm 14.3$ ) は非癌部非炎症胆嚢粘膜 ( $23.4 \pm 7.0$ ) に比べ有意に増加傾向が見られた ( $P < 0.05$ ) が非癌部炎症胆嚢粘膜 ( $35.1 \pm 11.1$ ) とは有意差が見られなかった。さらに、COX-2 の発現と発癌との関連を調べるため、ともに炎症性胆道疾患である PSC と PBC における COX-2 の発現を調べたところ、炎症胆管粘膜における COX-2 の発現は PBC ( $32.3 \pm 11.3$ ) より、発癌に関連の深い PSC ( $65.1 \pm 18.3$ ) で有意に増加しており ( $P < 0.01$ )、PSC での発現は随伴肝硬変内胆管粘膜 ( $72.4 \pm 12.5$ ) と同程度に高値であった。2) 各種胆管系癌細胞株においてインドメタシンは  $50 \mu\text{M}$  以上、NS398、JTE522 では

25  $\mu$ M以上の濃度で有意に濃度依存性の増殖抑制能を示した。各細胞株に対する COX-2 阻害剤の IC50 はそれぞれ、インドメタシンで 130-150  $\mu$ M、NS398 で 100-125  $\mu$ M、JTE522 で 40-60  $\mu$ M と細胞増殖抑制効果は COX-2 選択的阻害剤 (NS398、JTE522) が COX-2 非選択的阻害剤 (インドメタシン) より強力であった。

【総括】胆道系悪性腫瘍疾患において、非癌部炎症胆管粘膜の COX-2 蛋白発現は非炎症部と癌部の中間であった。また、発癌の可能性が高い PSC の COX-2 発現は、癌化と関連の薄い PBC のそれより優位に上昇していた。さらに各種胆管系悪性腫瘍細胞株を用いた増殖抑制実験では COX-2 選択的阻害剤が、COX 非選択的阻害剤より強い増殖抑制を示し、癌部での COX-2 の発現亢進が腫瘍増殖とも関連のあることが示された。以上より COX-2 は胆管系悪性腫瘍においても発癌、増殖に関連し、分子標的治療のターゲットになりうることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

サイクロオキシゲナーゼ (COX) はアラキドン酸からプロスタグランジン、トロンボキサンを合成する代謝経路の key enzyme で種々の生理作用に関与する。COX には COX-1 と COX-2 の 2 つの isoenzyme が存在し、COX-1 が恒常的に発現しているのに対して COX-2 は種々の刺激で誘導される。近年、各種癌において COX-2 の発現増強が報告され、腫瘍の発生・進展における同酵素の関与が示唆されている。本研究では炎症がその発生母地として注目されている胆管系悪性腫瘍と胆管系炎症性疾患における COX-2 蛋白の発現を検討した。さらに胆管系悪性腫瘍細胞株に対する COX-2 選択的阻害剤の増殖抑制効果を検討し、治療における COX-2 選択的阻害剤の有用性を検証した。

外科的切除によって得られた肝内胆管癌 13 例、胆外胆管癌 22 例、胆嚢癌 9 例、針生検と剖検組織より得られた原発性硬化性胆管炎 (PSC) 7 例、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 15 例を対象とした。免疫組織染色にて COX-2 蛋白発現強度 (腫瘍症例では同一組織切片における癌部、非癌部炎症部、非癌部非炎症部) をコンピューター解析ソフトを用いて数値化し、比較検討した。胆管系悪性腫瘍細胞株 [HuCC-T1 (肝内胆管癌)、TFK-1 (肝外胆管癌)、Mz-ChA-1 (胆嚢癌)] を用いて COX 非選択的阻害剤 (インドメタシン)、COX-2 選択的阻害剤 (NS398、JTE522) による増殖抑制実験を行った。

腫瘍症例での COX-2 染色強度は非癌部非炎症胆管粘膜、非癌部炎症胆管粘膜、癌部の順に増加しており 3 組織間で有意差がみられた。一方、炎症性疾患である PSC、PBC ではともに同程度の組織学的炎症強度を認めたが、発癌の可能性が高い PSC の COX-2 発現は、癌化との関連性の薄い PBC のそれより有意に増加していた。いずれの胆管系悪性腫瘍細胞株においても COX-2 選択的阻害剤は COX 非選択的阻害剤と比較してより低い IC50 (細胞増殖を 50% 抑制する薬剤濃度) で増殖抑制を示した。

従って COX-2 の発現は胆管系悪性腫瘍において、その発生や増殖に関連することが示唆され、その予防及び治療における新たな分子標的になる可能性があり、以上の研究に対して学位授与に値すると考えられる。