



Title	Synergistic antitumor effects of celecoxib with 5-fluorouracil depend on IFN- $\gamma$
Author(s)	入江, 孝延
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48962">https://hdl.handle.net/11094/48962</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〉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	いり え たか のぶ 入 江 孝 延
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 4 5 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 4 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学 位 論 文 名	Synergistic antitumor effects of celecoxib with 5-fluorouracil depend on IFN- $\gamma$ (celecoxib は 5-fluorouracil の抗腫瘍効果を IFN- $\gamma$ 依存性に増強する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 林 紀夫  (副査) 教 授 門 田 守 人 教 授 青 笹 克 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

これまでの疫学調査により、非ステロイド系消炎鎮痛薬 (NSAIDs) の長期服用者は大腸癌の発生リスクが低下することが示されている。基礎的検討から、NSAIDs の標的酵素である Cyclooxygenase (COX)、中でも誘導型の COX-2 が大腸腫瘍で高発現しており、腫瘍細胞増殖、抗アポトーシス、腫瘍血管新生、腫瘍の浸潤転移、腫瘍免疫抑制など癌の発生進展において重要な働きをしていることが明らかとなり、COX-2 阻害剤に大腸腫瘍に対する化学予防効果があることが注目されてきた。進行癌においても、基礎的および臨床的研究で抗癌剤と COX-2 阻害剤との併用投与療法が考案されているが、その併用効果については明らかではない。そこでわれわれは、マウス進行大腸癌モデルを用い、COX-2 阻害剤 celecoxib と抗癌剤 5FU の併用効果並びに抗腫瘍増強の機序について検討した。

### 〔 方 法 〕

BALB/c マウスに同系マウス由来の大腸癌細胞 Colon 26 を皮下接種し、腫瘍径が 5 mm に達した時点 (腫瘍塊が確立された時点) から、5FU (20 mg/kg) と celecoxib (3 mg/kg) をそれぞれ単独または併用して 21 日間投与し腫瘍径を測定した。投与終了時に腫瘍を採取し、血管内皮細胞上に発現する CD31 に対する免疫染色法を用いて腫瘍血管新生の程度を、汎白血球マーカーである CD45 に対する免疫染色法を用いて腫瘍組織内の白血球浸潤の程度を評価した。また、腫瘍組織内の血管新生因子として VEGF 濃度を、サイトカインとして IL-10、IL-12、IFN- $\gamma$  の濃度を ELISA 法を用いて測定した。さらに皮下移植腫瘍に対する腫瘍免疫担当細胞として、腫瘍浸潤 CD4、CD8 陽性 T 細胞をフローサイトメトリーで評価した。さらに、メカニズムを詳細に検討するため、IFN- $\gamma$  ノックアウトマウスと野生型マウスを用い、同様に腫瘍を皮下接種して 5FU と celecoxib を併用投与し、腫瘍径の推移と腫瘍血管新生の程度を比較検討した。

### 〔 成 績 〕

celecoxib 単独ではコントロールに比べ確立された皮下腫瘍増殖を抑制しなかった。5FU は単独でコントロールに

比べ有意に腫瘍増殖を抑制し、celecoxib と併用すると 5FU 単独に比べさらに有意に腫瘍増殖を抑制した。

celecoxib あるいは 5FU のそれぞれ単剤投与ではコントロールに比べて有意に腫瘍組織内の血管密度を低下させ、さらに celecoxib・5FU の併用はコントロールおよび 5FU 単剤投与に比べ有意に腫瘍内血管密度を低下させた。celecoxib や 5FU の単剤投与および celecoxib・5FU の併用投与はコントロールより有意に腫瘍組織内の VEGF 濃度を低下させた。ただし 5FU 単剤群と併用投与群の間に有意差はなく、血管新生抑制には VEGF 以外の因子の関与も考えられた。

腫瘍組織内の IL-10 および IL-12 濃度に有意差は見られなかったが、IFN- $\gamma$  濃度は、5FU と celecoxib との併用で 5FU 単独に比べ有意に増加していた。IFN- $\gamma$  ノックアウトマウスに同様に腫瘍を皮下接種して 5FU と celecoxib を併用投与したところ、野生型で認められた併用投与による腫瘍増殖抑制効果および血管新生抑制効果は認められなかった。

5FU の投与で、腫瘍組織における白血球浸潤の程度はコントロールに比べ有意に低下した。celecoxib は、コントロールより有意に腫瘍内白血球浸潤を増加させ、celecoxib と 5FU の併用投与は、5FU の投与により減少した白血球浸潤を有意に改善させた。しかし、CD4<sup>+</sup> T 細胞や CD8<sup>+</sup> T 細胞の頻度は各群間で有意差は認められなかった。

#### [ 総 括 ]

進行大腸癌モデルにおいて、celecoxib は 5FU の抗腫瘍効果を増強することが示唆された。5FU に celecoxib を併用すると有意に血管新生が抑制され、腫瘍組織内 IFN- $\gamma$  が増加した。腫瘍組織における腫瘍免疫の effector 細胞の頻度に差は見られなかったこと、および IFN- $\gamma$  ノックアウトマウスにおいて併用投与による血管新生抑制効果が減弱していたことから、IFN- $\gamma$  は、血管新生の抑制に寄与することによって、celecoxib による 5FU の抗腫瘍効果増強に重要な役割を果たしているものと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

Cyclooxygenase (COX) のうち、誘導型の COX-2 は、癌の発生・増殖進展に重要な働きをしており、COX-2 阻害剤に腫瘍の化学予防効果があることが注目されてきた。本研究では、マウス進行大腸癌モデルを用い、COX-2 阻害剤 celecoxib と抗癌剤 5fluorouracil (5FU) の併用効果と、抗腫瘍増強機序について検討した。

マウス進行癌モデルにおいて、celecoxib は単独では有意な抗腫瘍効果を認めなかったが、5FU との併用により 5FU の抗腫瘍効果を有意に増強した。これには腫瘍血管新生の抑制が寄与していることを示した。さらに IFN- $\gamma$  ノックアウトマウスを用いて celecoxib と 5FU 併用による抗腫瘍効果ならびに血管新生抑制効果が IFN- $\gamma$  依存性であることを証明した。

本研究は、進行大腸癌に対する新たな化学療法の可能性を示すものであり、よって学位の授与に値するものと考えられる。