

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：	34401
研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2010～2012
課題番号：	22591923
研究課題名（和文）	頭頸部扁平上皮癌におけるプロスタグランジン受容体の解析とその臨床的意義
研究課題名（英文）	Investigation of prostaglandins receptors and their clinical significance in head and neck squamous cell carcinoma
研究代表者	
河田 了	(Kawata Ryo)
	大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：	40224787

研究成果の概要（和文）：免疫組織学的検討で頭頸部扁平上皮癌において、シクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）、microsomal プロスタグランジン（PG）E 合成酵素-1（mPGES-1）ともに強い発現を認めた。しかも COX-2 と mPGES の局在が極めて類似しており、両酵素の連関が示唆された。またそれらは高分化型癌、リンパ節転移のない症例で強い発現を認めた。mRNA レベルの検討でも、COX-2、mPGES ともに高分化型癌、リンパ節転移のない症例で高い発現を認めた。PGE2 の受容体である EP1～EP4 はいずれも発現を認め、特に EP2 が強い発現を認めた。

研究成果の概要（英文）：Overexpression of both cyclooxygenase (COX) -2 and mPGES-1 were evaluated by immunohistochemistry in head and neck squamous cell carcinoma. Localization of COX-2 and mPGES-1 was very similar, and well-differentiated tumors showed stronger expression than poorly differentiated tumors. The COX-2 and mPGES-1 mRNA were significantly higher in well-differentiated carcinomas and N0 patients. Receptors of PGE2, EP1 to EP4 were all expressed in carcinoma cells, especially in EP2.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、耳鼻咽喉科学

キーワード：プロスタグランジン、シクロキシゲナーゼ、頭頸部扁平上皮癌、PGE 合成酵素 PGE 受容体、転移

1. 研究開始当初の背景

1991 年にシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) が発見され、アラキドン酸代謝とりわけ COX 代謝に関する研究は新しい展開をみせた。アスピリンの大腸がんおよびその影響をみた大規模な疫学調査でその関連性が明らかにされ、時期を同じく COX-2 が発見されたことから、COX-2 と癌との関連が大いに注目された。1995 年以降多くのがんを対象に COX あるいはプロスタグランジン (PGs) 代謝についての研究がなされた。これまでの研究の成果から、癌の増殖、転移等に COX-2、PGE₂ が関与することは、種々の癌に共通する事実であり、頭頸部扁平上皮癌でも、我々の研究も含めて COX-2 や PGE₂ の関与が示唆されている。癌の化学予防という観点から、NSAIDs の投与とがんの発生の研究がなされたが、心血管系のイベントが発生したことからそのトライアルは中止されるに至った。そこで COX の下流の研究が今後の発展に重要であると考えられ、各種癌において、PGE 受容体を中心に研究が着手されているが、頭頸部扁平上皮癌においてはほとんど明らかにされていない。本研究では、PGs 系の代謝を明らかにするとともに、特に PGE 受容体について研究を進め、近い将来に可能になるであろう、癌に対する COX-PGs 系の薬剤の基礎的な検討を行いたい。

2. 研究の目的

大腸癌をはじめ多くの癌でシクロオキシゲナーゼ (COX) 代謝と癌の増殖・転移との関係が知られている。COX 阻害剤である

NSAIDs が、癌の化学予防として注目されたが、最近心血管系の副作用があることがわかり頓挫した。そのため、COX 代謝の下流が注目されており、今回ヒト頭頸部扁平上皮癌における COX 代謝について検討する。そのなかで主な下流の代謝経路である PGE₂ に着目し、特に PGE₂ 合成酵素および PGE₂ 受容体について検討する。PGE₂ 受容体は現在 4 種類知られているが、どのタイプが強く発現しているか、さらにその臨床的意義について検討する。近い将来 PGE₂ 受容体拮抗剤が、癌の化学予防として注目される可能性がある。

3. 研究の方法

① 対象

頭頸部扁平上皮癌 25 症例を対象とした。部位別では、喉頭 9 例、中咽頭 5 例、下咽頭 4 例、口腔 7 例であった。男性 20 例、女性 5 例であり、平均年齢は 65.8 歳であった。

② 方法

(1) COX および mPGES-1 の免疫組織学的検討

10%ホルマリン固定後、4 μm のパラフィン切片を作成した。用いた抗体は COX-1 ポリクローナル抗体 (Cayman)、COX-2 ポリクローナル抗体 (Cayman)、mPGES-1 ポリクローナル抗体 (Cayman)。さらに受容体の検討として、PGE₂ 受容体 (EP1, EP2, EP3, EP4 ポリクローナル抗体 (Cayman)) を用いた。型通り、ABC 法にて DAB で発色させた。核染色にはヘマトキシリン染色を行った。さらに蛍光抗体法に

より、COX2 と mPGES-1 の細胞内の局在について検討した。

(2) 遺伝子学的検討

tRNA を採取し、逆転写反応を行った後、cDNA を用いて COX-2, mPGES-1 の発現を臨床分類 (T 分類、N 分類) および組織学的分化度に分けて検討した。

(3) PGE₂ 受容体の検討

PGE₂ には 4 種類の受容体があるとされ、その 4 種類について免疫組織学的に検討した。

4. 研究成果

①免疫組織学的検討

(1) 正常扁平上皮

正常扁平上皮 5 例を用いて COX の発現を検討したところ、COX-1 の発現は見られたが、COX-2 の発現は細胞質にごくわずか認められるのみであった。mPGES-1 も正常扁平上皮における発現はごくわずかであった。

(2) 癌細胞の COX

扁平上皮癌細胞質に COX-1, COX-2 の発現が見られたが、COX-2 により強い発現が認められた。COX-1, COX-2 共に間質に浸潤した炎症細胞や、線維芽細胞にも発現が見られた。COX-2 では、間質に近い癌細胞で強い発現があった。高分化扁平上皮癌と低分化扁平上皮癌を比較したとき、低分化扁平上皮癌で癌細胞における COX-2 陽性細胞の割合が少なかった。しかし COX-1 の発現については差がなかった。

(3) 癌細胞の mPGES-1

COX 代謝の下流に位置する mPGES-1 も癌細胞細胞質に強い発現が認められた。mPGES-1 の発現は、高分化扁平上皮癌の細胞質の方が、低分化癌よりも亢進していた。低分化癌も高分化癌も間質の線維芽細胞や、炎症細胞でも発現が見られた。

(4) 蛍光抗体法による COX2 と mPGES-1 の

局在を検討

COX-2 と mPGES-1 の癌細胞における細胞内発現分布は類似しており、いずれも核周囲の細胞質に強い発現が認められた。蛍光抗体法により、COX2 と mPGES-1 の局在を検討したところ、いくつかの癌細胞で、COX2 と mPGES-1 が一致した。さらに、発現の分布をみると細胞質内の核膜近傍に集積が見られた。

②RT-PCR

(1) 部位と COX-2 および mPGES-1

喉頭癌 9 例、咽頭癌 9 例、口腔癌 7 例について検討した。部位別では COX-2、mPGES-1 ともに有意な差を認めなかった。

(2) T 分類と COX-2 および mPGES-1

UICC の T 分類に従い、T2 症例 11 例、T3 症例 4 例、T4 症例 10 例について検討した。T 分類では COX-2、mPGES-1 ともに有意な差を認めなかった。

(3) N 分類と COX-2 および mPGES-1

N+症例 17 例、N0 症例 8 例について検討した。リンパ節転移の有無では、COX-2 では N0 で有意に高い値を示したが、mPGES-1 では有意な差を認めなかった。

(4) 分化度と COX-2 および mPGES-1

高分化扁平上皮癌 15 例、低分化扁平上皮癌 10 例について検討した。COX、mPGES-1 ともに高分化扁平上皮癌では有意に高い値を示した。

(5) 生存と COX-2 および mPGES-1

生存例 12 例、死亡例 12 例について検討した。生存別では COX-2、mPGES-1 ともに有意な差を認めなかった。

③ PGE₂ 受容体

PGE₂ には 4 種類の受容体があるとされ、その 4 種類について免疫組織学的に検討した。

PGE₂ の 4 種類の受容体すべてにおいて、癌細胞に発現がみられた。EP2, EP3, EP4 については、間質に浸潤した炎症細胞や、線維芽細

胞、血管内皮細胞にも癌細胞と同程度の発現がみられた。EP3 と EP4 は、癌細胞での局在も類似していた。EP1 については、癌細胞での発現が、間質に浸潤した炎症細胞よりも弱かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. 河田 了 : 頭頸部扁平上皮癌におけるシクロオキシナーゼ-2とプロスタグランジン E 合成酵素の発現. 耳鼻免疫アレルギー 29 (4) : 233-239, 2011. (査読有)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河田 了 (Kawata Ryo)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 40224787

(2) 研究分担者

李 昊哲 (Lee Kotetsu)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号 : 10368087