

平成21年 4月 1日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：18791211
 研究課題名（和文）
 頭頸部扁平上皮癌における COX-2 発現と発癌における PGE2 合成経路の関与
 研究課題名（英文） COX-2 expression and involvement of PGE2-synthesizing pathway in carcinogenesis of head and neck cancer
 研究代表者
 後藤 理恵子（GOTO RIEKO）
 香川大学・医学部・助教
 研究者番号：20304602

研究成果の概要：

頭頸部癌では COX-2 の過剰発現を認め、異形成でも 6 割に過剰発現を認めた。PGE2 レセプターに関しては EP3、EP4 レセプターが癌細胞において高頻度に発現を認め、Cox-2 ならびに PGE2 産生能の異なる 2 種類の頭頸部癌培養細胞を用いて EP3 阻害剤と EP4 阻害剤の効果を検討したところ、EP3 阻害剤による細胞増殖抑制効果を認めた。COX-2 阻害剤と同様に EP3 阻害剤は癌細胞の増殖を抑制する可能性が示唆されたが、その機序は PGE2 合成経路以外の関与も考えられ、今後のさらなる検討を要する。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,400,000	0	1,400,000
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	300,000	3,700,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

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：①COX2 ②PGE2 receptor ③carcinogenesis

1. 研究開始当初の背景

COX-2 選択的阻害剤が大腸癌の発生・進展を抑制することが報告され、COX-2 選択的阻害剤の抗がん剤としての可能性が強く注目されるようになった。その後、多くの部位の癌で COX-2 との関連が指摘され、口腔、咽頭領域でも COX-2 の過剰発現と癌との関連が注目

されるようになった。培養細胞や、癌細胞を移植したヌードマウスを用いた実験などで COX-2 選択的阻害剤が頭頸部扁平上皮癌の増殖を抑制するとの報告がなされたが、prostaglandin の系を介さない作用機序の可能性もあり、COX-2 選択的阻害剤と発癌抑制とのメカニズムはいまだ不明な点が多い。

2. 研究の目的

元来慢性炎症と発癌との因果関係の強い頭頸部領域でもCOXを中心としたプロスタグランジン関連の詳細な検討が必要不可欠である。近年、PGE2レセプターであるEP4レセプターの阻害剤が乳癌の増殖を抑制するという報告があり、大腸癌でもEP1, EP4レセプターとの関与が示唆されている。一方、肺癌細胞では、培養細胞やknockout mouseを用いた実験系で、EP3レセプターが癌細胞増殖の促進に関与しているとされている。頭頸部癌においてもPGE2をPGE2に変換する酵素であるmicrosomal prostaglandin E synthase 1(mPGES-1)の過剰発現や、EP1~EP4レセプターの発現が報告されており、レセプターの阻害による癌抑制効果を検討することはCOX-2選択的阻害剤の作用機序を解明する上でも重要と考える。また、プロスタグランジンレセプターの抑制により癌細胞の増殖抑制効果があれば、COX-2阻害より副作用の点で有利なことも考えられ、臨床応用にも期待できる。

3. 研究の方法

下咽頭がんの病理組織検体を用いて癌細胞および異形成、正常細胞におけるCOX-2の発現の相違を免疫組織学的手法によって検討した。次いで、頭頸部癌由来培養細胞株を用いてCOX-2ならびにPGE2 receptorの発現をmRNAレベルで検討。その結果に基づいて、PGE2 receptorの拮抗剤が癌細胞の増殖を抑制する効果があるかどうか検討した。

4. 研究成果

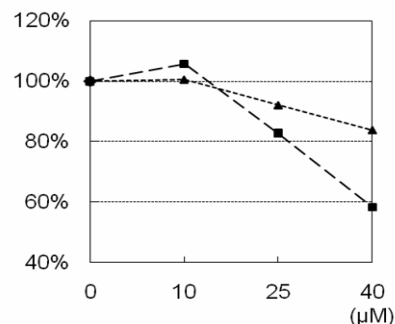
(1)臨床的な検討として下咽頭癌症例75例でのCOX-2発現を検討した結果、73例(97.3%)でCOX-2の発現を認め、また異形成部分の58.6%でもCOX-2の発現を認めた。すなわちCOX-2の過剰発現は発癌の過程に何らかの関

与をしていると推察され、COX-2の経路の阻害が癌化を予防できる可能性が示唆された。

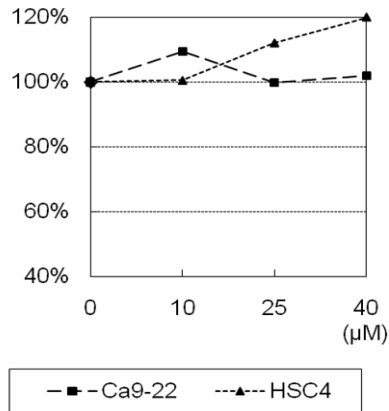
(2)生検あるいは手術で得られた組織11例(舌)を用いてPGE2receptorの各サブタイプの発現をmRNAレベルで検討すると、EP1で4/11、EP2で5/11、EP3で10/11、EP4では11例全例でmRNAの発現を認めた。頭頸部癌細胞由来の培養細胞4種類で同様の検討を行ったところ、いずれの細胞でもEP3, 4receptorの発現は認めたが、EP3では発現の程度に差を認め、EP1, 2は細胞によっては明らかな発現を認めないものがあった。

(3)上記の結果を踏まえて、癌細胞での発現が多く認められたEP3, EP4 receptorに関してその拮抗薬による癌細胞増殖抑制効果をin vitroで検討した。

COX-2の発現およびPGE2の産生が強いCa9-22 cell lineとCOX-2の発現およびPGE2の産生が弱いHSC4 cell lineを用いてEP3, EP4 antagonistの作用を検討したところ、Ca9-22 cell lineでEP3 antagonistによる細胞増殖抑制効果を顕著に認めた。HSC4 cell lineにおいても、弱いながらも抑制効果を認めた。しかしながら、EP4 antagonistはいずれの細胞においても癌細胞の増殖抑制効果を認めず、むしろ増殖が亢進する傾向を認めた。

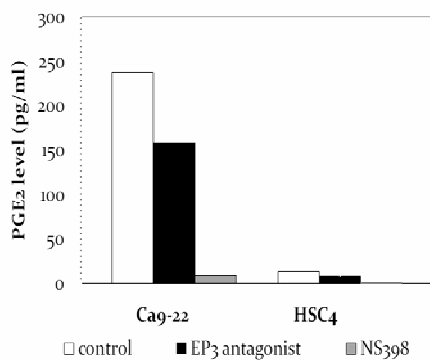


Effect of EP3 antagonist



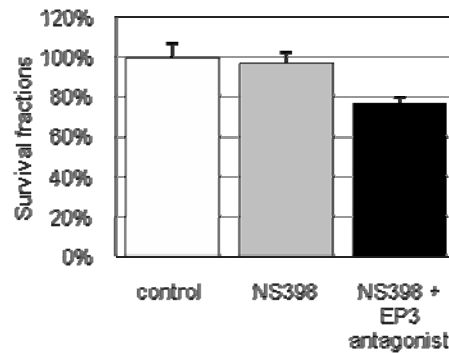
Effect of EP4 antagonist

(4) COX-2 阻害剤である NS398, と EP3 antagonist 投与により細胞の PGE2 産生レベルがどのように変化するか検討したところ、NS398 投与では PGE2 の産生が著明に抑制され、EP3 antagonist でも有意な低下を認めた。すなわち、EP3 antagonist は PGE2 産生経路に影響し、その作用で細胞増殖が抑制されることが推察された。



(5) PGE2 との関連を検討するため、NS398 および EP3 antagonist で細胞を前処置した後、PGE2 を培養液中に投与し、その影響を検討したところ、いずれの処置を施した群も、PGE2 の投与によりやや増殖抑制効果が減弱したが、有意な差は認められなかった。さらに、細胞抑制効果はないものの PGE2 の産生は十分に抑える程度の NS398 で前処置後、EP3

antagonist を加えると、有意な細胞増殖抑制効果を認めた。このことから、EP3 antagonist は PGE2 産生に影響し、産生を抑制するものの、細胞増殖抑制効果については PGE2 の経路以外の系が関与している可能性が示唆された。



(6) PGE2 以外の関与を検討するため、EP3 antagonist 投与後の細胞周期の変化、ならびにサイクリン調節因子の検討を行った。その結果、EP3 antagonist 投与により、G1 arrest がわかり、cyclinD1, CDK2, CDK4 の低下や p21 の増加を認めた。すなわち、EP3 antagonist による細胞増殖抑制作用として細胞周期の G1 期停止がその主だったメカニズムの一つであることが推察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

- ① Goto R, Hoshikawa H, Fujii T et.al. Clinicopathological significance of cyclooxygenase-2 expression in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Oncology Reports* 19:645-650:2008 査読有
- ② Hoshikawa H, Goto R, et al. Expression of prostaglandin E2 receptors in oral squamous cell carcinomas and growth inhibitory effects of an EP3 selective antagonist, ONO-AE3-240. *International Journal of Oncology* 34:847-852:2009 査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

- ① 星川広史、頭頸部扁平上皮癌に対する PG 受容体の発現と選択的拮抗薬の効果, 日本癌治療学会 2006. 10. 20, 東京都

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 理恵子 (GOTO RIEKO)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：20304602