

平成21年 4月30日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590722  
 研究課題名（和文） 腫瘍免疫・血管新生からみた大腸癌化学療法の抗腫瘍活性増強に関わる標的分子の探索  
 研究課題名（英文） Investigation of target molecules involved in enhanced antitumor effects of chemotherapy for colorectal cancer from the view point of tumor immunity and tumor angiogenesis.  
 研究代表者 辻井 正彦 (TSUJII MASAHIKO)  
 大阪大学・医学系研究科・講師  
 研究者番号：40303937

## 研究成果の概要：

疫学的研究から NSAIDs、cyclooxygenase-2 阻害剤の腫瘍免疫増強作用・腫瘍血管新生抑制作用を介して抗腫瘍効果を発揮することが明らかにされてきている。本研究では、大腸癌のマウスモデルを用いて、化学療法に cyclooxygenase-2(COX-2)阻害剤を併用した際の抗腫瘍効果に及ぼす影響を検討した。結果は COX-2 阻害剤は腫瘍内インターフェロン $\gamma$ 産生を誘導し、腫瘍血管新生を抑制することにより、5FU の抗腫瘍効果を増強することが明らかとなった。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
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：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：COX 阻害剤、血管新生、インターフェロン、悪液質、VEGF

## 1. 研究開始当初の背景

疫学的検討から、NSAIDs の大腸癌の予防薬としての有効性が示唆されているが、我々は、その標的分子 cyclooxygenase(COX)のうちの誘導型の 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を明らかにし、COX 阻害剤の癌予

防薬としての有用性を報告してきた。

## 2. 研究の目的

進行大腸癌に対する COX-2 阻害剤と抗がん剤の併用効果に関しては、一定の見解は得られていない。今回、COX-2 阻害剤 celecoxib の抗がん剤の抗腫瘍効果に及ぼす影響についてマウスモデルを用いて検討した。

### 3. 研究の方法

マウスの皮下移植腫瘍に対し、5mm以上の大きさになってから、治療薬の投与を開始するモデルを用いた。経時的に腫瘍の大きさを測定し、腫瘍内の血管新生因子 VEGF 量、末梢血中の TNF- $\alpha$ 、インターフェロン $\gamma$ 、IL-1 $\beta$  濃度を測定した。

### 4. 研究成果

5FU20mg/kg 以上投与した群では、コントロールの vehicle 投与群に比べ、有意に移植皮下腫瘍増殖を抑制したが、celecoxib を併用した群では、5FU10mg/kg 投与群においても、有意に腫瘍増殖は抑制された。celecoxib を併用した群では、腫瘍内の新生血管の密度は有意に低値を示し、celecoxib を併用することにより、血管新生が抑制され、腫瘍増殖が抑制されることが示唆された。また、celecoxib 併用群では、腫瘍組織中のインターフェロン IFN- $\gamma$  が高値を示していたので、IFN- $\gamma$  ノックアウトマウスを用いて、同様の皮下移植モデルの検討を行ったところ、IFN- $\gamma$  ノックアウトマウスでは celecoxib 血管新生抑制効果は認められず、5FU の抗腫瘍効果に及ぼす celecoxib の上乘せ効果も減弱していた。以上から、celecoxib は IFN- $\gamma$  産生を惹起し、産生された IFN- $\gamma$  が腫瘍血管新生を抑制することにより、5FU による抗腫瘍効果を増強する可能性が示唆された。

本検討から、化学療法下に COX-2 阻害剤を併用することは、腫瘍組織内で IFN- $\gamma$  産生を誘導することにより腫瘍内血管新生を抑制するという機構を介し、化学療法の抗腫瘍効果を増強する可能性が示唆された。

### 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 18 件)

1. Ishii S, Tsuji S, Tsuji M, et al. Involvement of bone marrow-derived stromal cells in gastrointestinal cancer development and metastasis. *J Gastroenterol Hepatol*.23:S242-249,2008 査読有
2. Shinzaki S, Iijima H, Nakagawa T, Egawa S, Nakajima S, Ishii S, Irie T, Kakiuchi Y, Nishida T, Yasumaru M, Kanto T, Tsuji M, Tsuji S, Mizushima T, Yoshihara H, Kondo A, Miyoshi E, Hayashi N. IgG Oligosaccharide

Alterations Are a Novel Diagnostic Marker for Disease Activity and the Clinical Course of Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol*. 103:1173-1181,2008. 査読有

3. Hayashi Y, Tsuji S, Tsuji M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical Transplantation of Mesenchymal Stem Cells Accelerates Gastric Ulcer Healing in Rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 295:G163-G169,2008. 査読有
4. Egawa S, Iijima H, Shinzaki S, et al. Upregulation of GRAIL is associated with remission of ulcerative colitis. *Am H Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 295:G163-169,2008 査読有
5. Nishida T, Tsuji S, Tsuji M, et al. Cultured bone marrow cell local implantation accelerate healing of ulcers in mice. *J Gastroenterol*.43:124-135,2008 査読有
6. Hayashi Y, Tsuji S, Tsuji M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical Implantation of Mesenchymal Stem Cells has Beneficial Effects on Healing of Experimental Colitis in Rats. *J Pharmacol Exp Ther* 326:523-531,2008 査読有
7. Hayashi Y, Tsuji S, Tsuji M, et al. Topical transplantation of mesenchymal stem cells accelerates gastric ulcer healing in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 294:G778-786,2008 査読有
8. Shinzaki S, Iijima H, Nakagawa T, et al. IgG oligosaccharide alterations are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 103:1173-1181,2008 査読有
9. 西田勉, 辻晋吾, 山本克己、他。糖尿病における GERD:定量的末梢知

- 覚試験からの検討 Progress in Medicine.20:706-709,2008 査読無
10. 西田勉、山本克己、筒井秀作、他. CEA 高値で発見された非症候性膵グルカゴノーマの一例 膵臓 23:140-145,2008 査読有
  11. Hayashi Y, Nishida T, Kondo J, Yamamoto K, Iijima H, Tsutsui S, Hiramatsu N, Tsuji M, Tsuji S, Ito H, Takehara T, Hayashi N. Modified FOLFOX6 was effective for advanced adenocarcinoma with unknown origin in a patient with Crohn's disease 日本消化器病学会雑誌 106:69-76,2008 査読有
  12. Asahi K, Fu HY, Hayashi Y, Eguchi H, Murata H, Tsuji M, Tsuji S, Tanimura H, Kawano S. Helicobacter pylori infection affects Toll-like receptor 4 expression in human gastric mucosa. Hepatogastroenterology.54:1941-1944, 2007 査読有
  13. Murata H, Tsuji S, Tsuji M, Nakamura T, Fu HY, Eguchi H, Asahi K, Okano H, Kawano S, Hayashi N. Helicobacter pylori infection induces candidate stem cell marker musashi-1 in the human gastric epithelium. Dig Dis Sci.53:363-369;2007 査読有
  14. Irie T, Tsuji M, Tsuji S, Yoshio T, Ishii S, Shinzaki S, Egawa S, Kakiuchi Y, Nishida T, Yasumaru M, Iijima H, Murata H, Takehara T, Kawano S, Hayashi N. Synergistic antitumor effects of celecoxib with 5-fluorouracil depend on IFN-gamma. Int J Cancer.121:878-883,2007 査読有
  15. Nishida T, Yabe Y, Fu HY, Hayashi Y, Asahi K, Eguchi H, Tsuji S, Tsuji M, Hayashi N, Kawano S. Geranylgeranylacetone induces cyclooxygenase-2 expression in cultured rat gastric epithelial cells through NF-kappaB. Dig Dis Sci.52:1890-1896, 2007 査読有
  16. Yoshio T, Morita T, Kimura Y, Tsuji M, Hayashi N, Sobue K. Caldesmon suppresses cancer cell invasion by regulating podosome/invadopodium formation. FEBS Letter 581:37777-3782,2007 査読有
  17. Hayashi Y, Tsuji S, Tsuji M, Nishida T, Ishii S, Nakamura T, Eguchi H, Kawano S. The transdifferentiation of bone-marrow-derived cells in colonic mucosal regeneration after dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice. Pharmacology.80:193-199, 2007 査読有
  18. Tsuji M Possibilities of prevention of colonic neoplasms. Nippon Naika Gakkai Zasshi.96:295-304,2007 査読有
- [学会発表] (計 31件)
1. Tsuji M, Tsuji S, Eguchi H, et al. Chemical intervention reverses oxidative stress-induced epigenetic alterations in colon cancer cells: Clues for new chemopreventive measures against aging and carcinogenesis. 米国消化器病学会2008年5月21日
  2. Shinzaki S, Iijima H, Nakagawa T, et al. IgG oligosaccharide alterations are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease 米国消化器病学会2008年5月21日 米国サンディエゴ
  3. Hayashi Y, Tsuji S, Tsuji M, et al. Mesenchymal Stem Cells Transplantation Accelerates Gastric Ulcer Healing in Rats 米国消化器病学会2008年5月21日 米国サンディエゴ
  4. Nakajima S, Iijima H, Shinzaki S, et al. Bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in patients with inflammatory bowel disease 米国消化器病学会2008年5月21日 米国サンディエゴ
  5. Wang J, Tsuji M, Tsuji S, et al. Possible roles of let-7 microRNA expression in the Cytotoxin-associated pathogenesis 米国消化器病学会2008年5月21日 米国サンディエゴ
  6. Ishii S, Tsuji S, Tsuji M, et al. Bone-marrow cells are able to develop Interstitial Cells of Cajal: Morphologic Evidences in W/Wv mice 米国消化器病学会2008年5月21日 米国サンディエゴ

7. Yoshio T, Morita T, Tsuji M, et al. Caldesmon suppresses cancer cell invasion by regulating podosome/invadopodium formation. 米国消化器病学会2008年5月21日米国サンディエゴ
8. Egawa S, Iijima H, Shinzaki S, et al. Upregulation of E3 ubiquitin ligases related to T cell activity in CD4+ T cells isolated from patients with ulcerative colitis in remission 米国消化器病学会2008年5月21日米国サンディエゴ
9. Kondo J, Tsuji S, Iijima H, et al. Indications And Diagnostic Yield Of Double Balloon Enteroscopy In A Tertiary Care Setting: An Analysis Of 527 Cases With Suspected Small Bowel Diseases 米国消化器病学会2008年5月21日米国サンディエゴ
10. 飯島英樹、新崎信一郎、中島佐知子、他炎症性腸疾患に見られるガラクトース欠損IgGによるマクロファージ機能への影響の解析第94回日本消化器病学会総会2008/5/10 福岡
11. 井上隆弘、飯島英樹、中島佐知子、他クローン病における悪性腫瘍合併症例の検討第94回日本消化器病学会総会2008/5/10福岡
12. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、他マウス炎症性腸疾患におけるT細胞の免疫寛容の関与についての検討第94回日本消化器病学会総会2008/5/10福岡
13. 中島佐知子、飯島英樹、新崎信一郎、他炎症性腸疾患患者における骨密度および骨代謝マーカーの検討第94回日本消化器病学会総会2008/5/10福岡
14. 石井修二、辻晋吾、辻井正彦、他骨髄移植モデルを用いた消化管運動障害の改善に関する検討第94回日本消化器病学会総会2008/5/10福岡
15. 由雄敏之、森田剛、辻井正彦、他Caldesmonはinvadopodium/podosomeの形成を阻害する癌細胞浸潤の抑制因子である第94回日本消化器病学会総会2008/5/10福岡
16. 垣内佳美、辻晋吾、辻井正彦、他低用量アスピリンによる上部消化管粘膜障害：病変予測因子の検討第94回日本消化器病学会総会2008/5/10福岡
17. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、他潰瘍性大腸炎患者におけるT細胞アナジの検討第45回日本消化器免疫学界総会2008/7/4京都
18. Shinzaki S, Iijima H, Nakagawa T, et al. Alterations in IgG fucosylated oligosaccharides are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease JHUPO conference 2008 2008/7/29大阪
19. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、他マウス炎症性腸疾患におけるT細胞の免疫寛容の関与についての検討第36回日本潰瘍学会総会2008/9/5大阪
20. 米本仁史、濱野美奈、西田勉、他短期間に増大した胃腺内分泌細胞腫の一例第81回日本消化器内視鏡学会近畿地方会2008/9/20大阪
21. 井上隆弘、飯島英樹、中島佐知子、他クローン病術後に対する小腸内視鏡検査の有用性と問題点JDDW 2008 2008/10/3東京
22. 西田勉、筒井秀作、山本克己、他進行腺癌 (cStageIV)の治療戦略JDDW 2008 2008/10/3東京
23. M. Tsujii, S. Tsuji, T.Kanto, T. Takehara, N. Hayashi DNA damage enhanced DNA methyltransferase activity via COX-2 and Erk activation, leading to aberrant hypermethylation 日本癌学会2007年10月3日 横浜
24. Y Hayashi, S Tsuji, M Tsujii, T Nishida, S Ishii, M Komori, T Irie, H Iijima, H Eguchi, N Hayashi, S Kawano. Transplantation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorated 2,4,6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid (TNBS)-Induced Colitis in Rats. Digestive Disease Week and 108<sup>th</sup> Annual Meeting of the AGA Institute 2007年5月20日 米国ワシントンDC
25. S Shinzaki, H Iijima, S Egawa, S Nakajima, S Ishii, T Yoshio, T Irie, Y Kakiuchi, T Nishida, M Yasumaru, T Kanto, M Tsujii, S Tsuji, N Hayashi Cyclooxygenase-2 Regulates Toll-like Receptor (TLR)2 Expression and Tlr2-Mediated Chemokine Production in Intestinal Epithelial Cells. Digestive Disease Week and 108<sup>th</sup> Annual Meeting of the AGA Institute 2007年5月20日米国ワシントンDC
26. M Tsujii, S Tsuji, S Tsutsui, H Iijima, M Yasumaru, T Nishida, T Irie, S Egawa, S Shinzaki, S Ishii, S Nakajima, T Yoshio, J Kondo, H Egu

- chi, S Kawano, N Hayashi. DNA Damage-Related Hypomethylation Induced Not Senescence Nor Apoptosis, But Aberrant Hypermethylation in CpG Island Methylator Phenotype-High Colon Cancer Cells Via Aberrant Erk/Akt Activation and Enhanced DNA Methyltransferase Activity. Digestive Disease Week and 108<sup>th</sup> Annual Meeting of the AGA Institute 2007年5月20日米国ワシントンDC
27. S Egawa, H Iijima, S Shinzaki, S Nakajima, J Kondo, S Ishii, T Yoshio, T Irie, Y Kakiuchi, T Nishida, M Yasumaru, M Tsujii, S Tsuji, N Hayashi. Expression of Grail, An E3 Ubiquitin-Ligase for Induction of T Cell Anergy, in Cd4+ T Cells of Patients with Ulcerative Colitis. Digestive Disease Week and 108<sup>th</sup> Annual Meeting of the AGA Institute 2007年5月20日米国ワシントンDC
28. T Irie, M Tsujii, S Tsuji, S , T Yoshio, S Ishii, S Shinzaki, S Egawa, Y Kakiuchi, T Nishida, M Yasumaru, H Iijima, H Murata, T Takehara, S Kawano, N Hayashi. Interferon-Gamma-Dependent Tumor-Suppressive Mechanisms of a COX-2 Inhibitor in Combination with 5-Fluorouracil. Digestive Disease Week and 108<sup>th</sup> Annual Meeting of the AGA Institute 2007年5月20日米国ワシントンDC
29. M Yasumaru, S Tsuji, M Tsujii, S Tsutsui, T Yoshio, S Nakajima, S Ishii, S Shinzaki, S Egawa, T Irie, T Nishida, Y Kakiuchi, H Iijima, S Kawano, N Hayashi Endoscopic Full-Thickness Resection (EFTR), a New Technique for Treatment of Gastric Malignancy. Digestive Disease Week and 108<sup>th</sup> Annual Meeting of the AGA Institute 2007年5月20日米国ワシントンDC
30. 新崎信一郎、飯島英樹、中島佐知子、柄川悟志、考藤達哉、三善英知、辻井正彦、辻 晋吾、吉原治正、林 紀夫糖鎖解析に基づく炎症性腸疾患の新たな血清マーカー第93回日本消化器病学会総会2007年4月20日青森
31. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、中島佐知子、石井修二、由雄敏之、入江孝延、垣内佳美、安丸正一、考藤達哉、辻井正彦、辻 晋吾、吉原治正、林 紀夫潰瘍性大腸炎患者におけるT細胞不応答性

の検討第93回日本消化器病学会総会2007年4月20日青森

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕  
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
辻井 正彦 (TSUJII MASAHIKO)  
大阪大学・医学系研究科・講師  
研究者番号：40303937

(2) 研究分担者  
飯島 英樹 (IIJIMA HIDEKI)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：90444520

(3) 連携研究者  
なし

