

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）  
 研究期間：2008 ～ 2009  
 課題番号：20890220  
 研究課題名（和文）膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素（mPGES-1）の発がん過程への関与の解析  
 研究課題名（英文）Analysis of microsomal prostaglandin E synthase (mPGES-1) in chemical carcinogen-induced colon carcinogenesis  
 研究代表者  
 亀井 大輔（KAMEI DAISUKE）  
 昭和大学・薬学部・助教  
 研究者番号：80515651

研究成果の概要（和文）：本研究では PGE<sub>2</sub> の最終合成酵素である膜結合型 PGE 合成酵素（mPGES-1）を標的とした新たな抗がん療法の基盤の確立を目指し、各種 mPGES-1 遺伝子改変マウスを用いて、アゾキシメタン誘導マウス大腸化学発がんモデルの解析を行った。その結果、mPGES-1 が大腸がんの発がんや進展に増悪因子として寄与していることが明らかとなった。本研究により、mPGES-1 の阻害が新たな作用機序の抗がん療法として有用である可能生が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We aimed at the possibility of microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1), which was last synthase of PGE<sub>2</sub>, as new therapeutic target of cancer. In this study, using various mPGES-1 gene modification mice, we analyzed the azoxymethane-induced colon tumorigenesis model. As a result, it was found that mPGES-1 contributed to initiation, promotion and progression of colorectal cancer as an exacerbation factor. This study suggested the possibility that inhibition of mPGES-1 was useful as an anticancer therapy of new mechanism of action.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2008 年度 | 1,340,000 | 402,000 | 1,742,000 |
| 2009 年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 総計      | 2,540,000 | 762,000 | 3,302,000 |

研究分野：薬理学、生化学

科研費の分科・細目：医歯薬学・生物系薬学

キーワード：PGE 合成酵素、mPGES-1、発がん、遺伝子欠損マウス、PGE<sub>2</sub>

## 1. 研究開始当初の背景

多岐にわたる生理活性を発揮する PGs 類に代表されるアラキドン酸代謝物は、生体の恒常性の維持に重要な役割を担う一方、その過剰産生は様々な病態と密接に関連している。このうち PGE<sub>2</sub> は最も広域な組織・細胞で産生される PG であり、炎症、発熱、発痛、

受胎、骨代謝、がん、組織保護、アルツハイマー病等の様々な生理的・病理的現象に関与する事が報告されている。PGE<sub>2</sub> の生合成経路は三段階の酵素反応からなり、最終段階を担う PGE 合成酵素(PGES)は現在、3 種の酵素が同定されている。このうち mPGES-1 は炎症性刺激により発現誘導される誘導型の

酵素で COX-2 と選択的に機能連関するという特徴を持ち、様々な病態下において COX-2/mPGES-1/PGE2 経路が症状の増悪化に寄与する可能性が強く示唆されている。アラキドン酸代謝物と発がん過程における知見は、NSAIDs の長期服用患者における大腸発がん率の有意な低下や、COX-2 阻害による抗がん作用など COX-2/PGE2 経路の発がん過程への関与を示唆する報告が多く、mPGES-1 と発がんとの関係については明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

我々は COX-2 の下流で機能している mPGES-1 に着目し、がん疾患との関連を中心に解析を進めてきた。その結果、mPGES-1 が COX-2 と協調的に作用して細胞増殖、細胞接着、細胞周期の調節などに関わる遺伝子群の発現を制御し、結果、細胞の悪性形質転換を引き起こすこと、また mPGES-1 がヒト臨床がん組織に臓器を超えて高頻度で高発現し、かつ大腸がん組織において COX-2 と共発現していることを報告してきた。これらの研究成果は COX-2/mPGES-1 経路の大腸がん発生過程への関与を示唆しており、mPGES-1 が抗がん療法の新たなターゲット分子となる可能性を示唆している。そこで本研究では、mPGES-1 遺伝子改変マウスを用いた *in vivo* での大腸発がんモデルの解析を中心に、mPGES-1 の大腸発がん過程への関与を明らかにすることを目的とし、mPGES-1 阻害における新たな抗がん療法の基盤の確立を目指した。

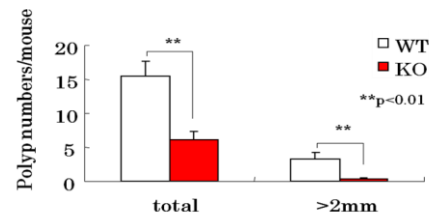
## 3. 研究の方法

mPGES-1 遺伝子欠損 (KO) マウスまたは mPGES-1 トランスジェニック (TG) マウス (常に全身に mPGES-1 が発現誘導されているマウス) に、化学発がん物質であるアゾキシメタン (AOM) (10mg/kg/week) を 6 週間連続で腹腔投与し、7 週間以降は通常飼育下で経過観察を行った。実験開始から 12 週間後または 24 週間後に個体を安楽死処理し、大腸組織サンプルを摘出し免疫組織化学染色や、生化学的解析試料として解析を行った。

## 4. 研究成果 (1) mPGES-1 KO マウスにおける腫瘍形成と前がん病変の抑制

mPGES-1 KO マウスでは AOM 投与後の腫瘍形成が、WT マウスと比較して、腫瘍数、腫瘍サイズ、病理学的診断、いずれの指標において顕著な発がん抑制が認められた (Fig. 1)。さらに前がん病変の形成も有意に抑制されていた。またがん組織の悪性度を  $\beta$  カテニンの核移行を指標に検討した結果、KO マウス由来のがん細胞では、 $\beta$  カテニンの発現上昇と核移行性の亢進が認められた。これらの結果よ

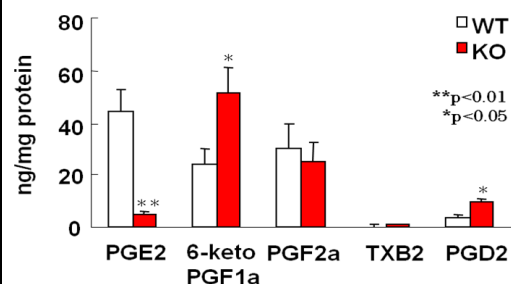
り、mPGES-1 が、発がんのイニシエーションやプロモーション過程、またプログレッション過程に、悪性化因子として機能している可能性が示唆された。



(Fig. 1) Reduced Colon Tumor induction in the mPGES-1 KO mouse

## (2) mPGES-1 KO マウスの腫瘍組織中におけるプロスタグランジン産生バランスの変化

両マウスの腫瘍部位における PGE2 を含む各種プロスタグランジン類の含有量を測定した結果、mPGES-1 KO マウスの腫瘍部位では、WT マウスと比較して、PGE2 産生量の有意な減少が認められた (Fig. 2)。一方、PGI2 の代謝物である 6-ketoPGF1 $\alpha$  と PGD2 含有量が有意に増加していた (Fig. 2)。一般に PGD2 は 15-deoxy-12, 14-PGJ2 (15d-PGJ2) に代謝され、PPAR $\gamma$  の活性化や NF- $\kappa$ B シグナルの抑制作用により、抗腫瘍効果を示すことが報告されている。そこで、PGD2 代謝物による影響を検討した結果、PPAR $\gamma$  とターゲット遺伝子の発現増加、さらに NF- $\kappa$ B シグナルの抑制が認められた。これらの結果から mPGES-1 の欠損による抗がん機構の 1 つとして、過剰に産生された 15d-PGJ2 を介した PPAR $\gamma$  の活性化や NF- $\kappa$ B シグナルの抑制による影響が考えられた。

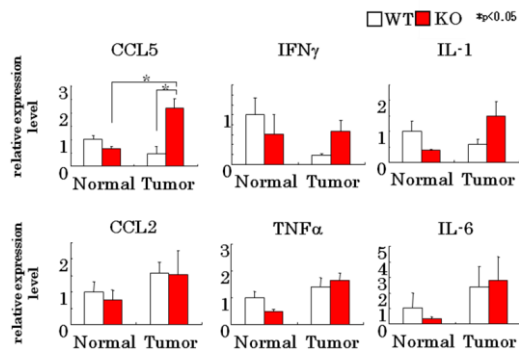


(Fig. 2) Decreased PGE2 and shunt into PGI2 and PGD2 in the mPGES-1 KO mouse

## (3) mPGES-1 KO マウスおよび WT マウスの腫瘍組織中における各種サイトカイン・ケモカイン産生

両マウスの腫瘍組織において、がんの進展に関するサイトカインやケモカインの mRNA 発現を定量的 PCR で検討したところ、mPGES-1KO マウスでは、WT マウスと比較して、CCL5 の有意な発現上昇と IFN $\gamma$ 、IL-1 $\beta$  の上昇傾向が認められた (Fig. 3)。一般に CCL5 や IL-1 $\beta$  は IFN $\gamma$  の発現上昇を介して、がん

の進展を抑制することから、mPGES-1 の欠損による抗がん機構の1つとして、CCL5やIL-1の発現上昇による INF $\gamma$ を介した、がん細胞の増殖抑制効果の影響も考えられた。



(Fig. 3) Induction of cytokine and chemokine in the mPGES-1 KO and WT mouse

(4) mPGES-1 トランスジェニック (TG) マウスにおける前がん病変数の増加

我々がすでに樹立した常に全身に mPGES-1 が発現誘導されているマウス (TG マウス) を用いて、AOM 投与後 12 週目の前がん病変数の検討を行ったところ、mPGES-1 TG マウスでは、対照マウスと比較して、前がん病変数の有意な増加が認められた。やはり本実験結果からも、mPGES-1 が、発がん過程において悪性化因子として機能している可能性が強く示唆された。

(5) まとめ

本研究により、mPGES-1 が発がん過程において増悪因子として機能していることが明らかとなった。mPGES-1 欠損による抗腫瘍効果のメカニズムとしては、PGE2 産生抑制による  $\beta$  カテニンの核移行の抑制やサイトカイン・ケモカインの発現変化を介した抗腫瘍効果とプロスタノイド産生バランスの変化 (PGD2 産生上昇など) を介した抗腫瘍効果の相乗効果による影響が示唆された。いずれにせよ、mPGES-1 の阻害が新たな作用基序の抗がん療法として有効である可能性が強く示唆された。

## 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 3 件)

① Hara S, Kamei D, Sasaki Y, Tanemoto A, Nakatani Y, Murakami M.

Prostaglandin E synthases: Understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models.

Biochimie. in press (2010)

② Kamei D, Murakami M, Sasaki Y, Nakatani Y, Majima M, Ishikawa Y, Ishii T, Uematsu

S, Akira S, Hara S, Kudo I.

Microsomal prostaglandin E synthase-1 in both cancer cells and hosts contributes to tumour growth, invasion and metastasis. Biochem J. 425:361-71. (2009)

③ Yamakawa K, Kamekura S, Kawamura N, Saegusa M, Kamei D, Murakami M, Kudo I, Uematsu S, Akira S, Chung UI, Nakamura K, Kawaguchi H.

Association of microsomal prostaglandin E synthase 1 deficiency with impaired fracture healing, but not with bone loss or osteoarthritis, in mouse models of skeletal disorders.

Arthritis Rheum. 58:172-83. (2008)

〔学会発表〕 (計 9 件)

① 佐々木由香、亀井大輔、松本このみ、その他 プロスタグランジン最終合成酵素欠損によるプロスタノイド産生バランスの変化 ファーマ・バイオフィォーラム 2009 (名古屋) 2009 年 11 月

② 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、その他 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の欠損によるプロスタグランジン産生バランスの変化に伴う発がん抑制作用 第 82 回 日本生化学会大会 (神戸) 2009 年 10 月

③ Yuka Sasaki, Daisuke Kamei, Yukio Ishikawa, et al. Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 (mPGES-1) Deficiency Suppresses Chemical Carcinogen-Induced Colon Carcinogenesis.

International Conference on the Bioscience of Lipids 2009, 17, Regensburg, Germany, September 2009

④ Yuka Sasaki, Daisuke Kamei, Yukio Ishikawa, et al. Role of microsomal prostaglandin E synthase (mPGES-1) in chemical carcinogen-induced colon carcinogenesis.

4th International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediators, 28, Tokyo, Japan, May 2009

⑤ 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、その他 マウス大腸における化学発がんへの膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の関与

日本薬学会 第 129 年会 (京都) 2009 年 3 月

⑥ 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、その他 マウス大腸化学発がんモデルにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の役割

BMB2008 (神戸) 2008 年 12 月

⑦ 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、その他 マウス大腸での化学発がんにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素

(mPGES-1)の役割

ファーマ・バイオフォーラム 2008 (東京) 2008年 11 月

⑧佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、その他 マウス大腸化学発がんモデルにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1)の役割

衛生薬学・環境トキシコロジー (熊本) 2008年 10 月

⑨佐々木由香、亀井大輔、黒澤まみ、その他大腸化学発がんモデルにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1)の役割

日本薬学会 第 128 年会 (横浜) 2008 年 3 月

[図書] (計 1 件)

樋口比登実 編 (一部共著: 亀井大輔)  
難知性疼痛の薬物療法 (南山堂) P257  
(共著ページ 8-11) 2010 年 6 月

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

亀井 大輔 (KAMEI DAISUKE)

昭和大学・薬学部・助教

研究者番号: 80515651

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: