

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861331

研究課題名(和文) 骨軟部肉腫に対する選択的cyclooxygenase-2阻害薬の効果

研究課題名(英文) Antitumor effect of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor on bone and soft tissue sarcomas.

研究代表者

箱崎 道之 (Hakozaki, Michiyuki)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10583651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、骨軟部肉腫(悪性骨軟部腫瘍)に対する新たな標的治療として、選択的シクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)阻害薬の抗腫瘍効果を評価することである。

本研究の結果、軟部肉腫の一つである悪性末梢神経鞘腫において、COX-2の過剰発現は独立した予後不良因子であることが判明した。また、悪性末梢神経鞘腫細胞株を用いた基礎的検討では、選択的COX-2阻害薬の投与により細胞株にアポトーシスが誘導されることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate a potential therapeutic role of cyclooxygenase-2 (COX-2) in bone and soft-tissue sarcomas.

In malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST), a rare and aggressive soft tissue sarcoma, overexpression of COX-2 was observed in 65.9%, was significantly associated with a poor overall survival, and was considered an independent risk factor for a poor outcome by the results of both univariate and multivariate analysis. Moreover, the selective COX-2 inhibitor etodolac induced apoptosis of MPNST cells through the activation of caspase-8, -9, and -3.

Selective COX-2 inhibitors including etodolac had an antitumor effect on MPNST cells, and their use holds promise as a novel therapeutic strategy for patients with MPNST to improve their prognoses.

研究分野：骨軟部腫瘍

キーワード：骨軟部肉腫 悪性骨軟部腫瘍 分子標的治療 腫瘍細胞株 選択的シクロオキシゲナーゼ-2阻害薬

1. 研究開始当初の背景

近年、ポストゲノム時代における新たながん治療法として、分子標的治療が注目を集めている。しかし、稀な腫瘍群である骨軟部肉腫（悪性骨軟部腫瘍）においてはその研究も立ち遅れているといわざるを得ない。

cyclooxygenase-2 (COX-2)はアラキドン酸をプロスタグランジン(PG)H2 に転換する律速酵素で、細胞増殖に関わることが指摘されている(図1)。

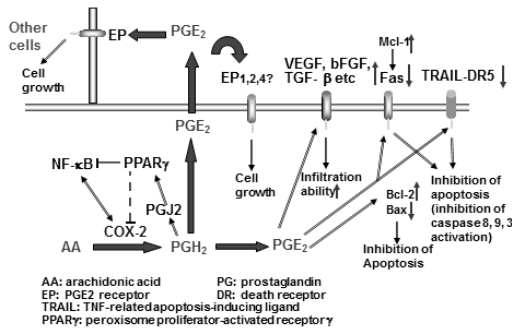


図1: COX-2の発がんへの関与

非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAIDs) 長期内服群の消化管における発癌率が、対照群に比べ有意に低いことが疫学的に報告されて以来、NSAIDs、とりわけ選択的 COX-2 阻害薬の抗腫瘍効果が注目されている。現在まで、各種の癌腫に対する抗腫瘍効果が報告され、COX-2 の作用を抑制する NSAIDs ががんの化学予防薬として有望視されているが、骨軟部肉腫を含めた非上皮性悪性腫瘍に対する抗腫瘍効果の報告は極めて少ない。

なお、研究代表者である箱崎らは、先行研究として小児腎悪性ラプドイド腫瘍細胞株 FRTK-1 を用い、この細胞株で COX-2 が発現し、さらに選択的 COX-2 阻害薬の腫瘍増殖抑制効果が caspase 経路を介した apoptosis により誘導されることを明らかにしている(文献)。

2. 研究の目的

本研究は、選択的 COX-2 阻害薬が骨軟部肉腫に対する新たな分子標的治療法となりうるか、臨床的・基礎的に研究することを目的とした。

国内外で選択的 COX-2 阻害薬の骨軟部肉腫に対する抗腫瘍効果についての研究はほとんど行われていない。もともと稀な腫瘍群であるため、他施設との共同研究として、各種の骨軟部肉腫の検体の提供を受け、それらにおける COX-2 の発現を検討することで、まとまった症例数での検討が可能になる。

さらに、当講座で樹立したものも含め、異なる細胞種の骨軟部肉腫細胞株を対象に、選択的 COX-2 阻害薬(celecoxib や etodolac な

ど)の抗腫瘍効果を検討することで、新たな分子標的治療法の開発と分子機構の解明につながることを期待される。

3. 研究の方法

国内の他研究施設に、骨軟部肉腫の生検または手術の組織標本と臨床情報の提供を依頼した。提供検体における COX-2 および関連マーカーの発現を免疫学的・分子生物学的に比較検討し、COX-2 の発現率と臨床面での予後(再発率、転移率、死亡率など)との関連について統計学的に調査した。

COX-2 の高発現(標本中 50%以上の腫瘍細胞が COX-2 タンパクを発現)が独立した予後規定因子となっていた骨軟部肉腫の細胞株を用い、選択的 COX-2 阻害薬の抗腫瘍効果を in vitro, in vitro で検討した。さらにその抗腫瘍効果がアポトーシス誘導によるものか否か、またアポトーシス誘導であった場合の誘導経路がカスパーゼを介するものか否かについても検討した。

4. 研究成果

高悪性度の軟部肉腫のうち、これまで、COX-2 発現についての報告がなかった、悪性末梢神経鞘腫(MPNST)44 例分の組織標本を、臨床情報と共に国内の研究施設から収集した。COX-2 高発現は 44 例中 29 例(65.9%)で認められた。臨床情報との比較検討により、COX-2 高発現群は 5 年全生存率が有意に不良であり(図2) さらに単変量解析・多変量解析の結果、独立した予後不良因子であることが判明した。

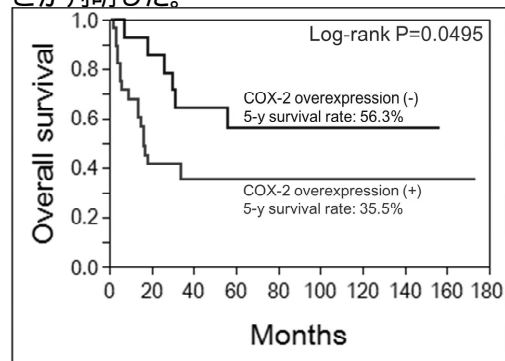


図2: 全生存とCOX-2高発現

さらに、研究代表者らが新たに樹立した MPNST 細胞株 FMS-1 (文献) に対する選択的 COX-2 阻害薬 etodolac の抗腫瘍効果を、同じく研究代表者らが樹立した未分化多形肉腫細胞株 FPS-1(文献)と比較検討した。その結果、FMS-1 と FPS-1 の両者で COX-2 の高発現が認められたが、in vitro での etodolac 投与では、FMS-1 ではカスパーゼ(-8, -9, -3)を介したアポトーシスが誘導されたが、FPS-1 では異なっていた。この結果から、

腫瘍のタイプによって選択的 COX-2 阻害薬の効果に差異が存在することが判明した。

他の骨軟部肉腫での検討のため、新たな骨軟部肉腫細胞株の樹立にも取り組んでおり、軟部明細胞肉腫細胞株 FCCS-1 を樹立した。性状についても解析し、現在、英文学術誌に投稿中である。

本研究で得られた結果をもとに、軟部明細胞肉腫を含む、他の骨軟部肉腫における COX-2 過剰発現と予後の相関についての臨床病理学的検討を、さらに進めてゆく予定である。

#### <引用文献>

Hakozaki Michiyuki, Hojo Hiroshi, Kikuchi Shinichi, Abe Masafumi: Etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis by activating caspases in human malignant rhabdoid tumor cells (FRTK-1). *Oncol Rep*, 17(1), 169-173, 2007.

Hakozaki Michiyuki, Hojo Hiroshi, Sato Michiko, Tajino Takahiro, Yamada Hitoshi, Kikuchi Shinichi, Abe Masafumi: Establishment and characterization of a novel human malignant peripheral nerve sheath tumor cell line, FMS-1, that overexpresses epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2. *Virchows Arch*, 455(6), 517-526, 2009.

Hakozaki Michiyuki, Hojo Hiroshi, Sato Michiko, Tajino Takahiro, Yamada Hitoshi, Kikuchi Shinichi, Abe Masafumi: Establishment and characterization of a new cell line, FPS-1, derived from human undifferentiated pleomorphic sarcoma, overexpressing epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2. *Anticancer Res*, 26(5A), 3393-3401, 2006.

#### 5 . 主な発表論文等

##### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hakozaki Michiyuki, Tajino Takahiro, Yamada Hitoshi, Kikuchi Shinichi, Yanagisawa Michiro, Nishida Jun, Nagasawa Hiroyuki, Tsuchiya Takashi, Ogose Akira, Konno Shinichi, Abe Masafumi, Hojo Hiroshi: Overexpression of cyclooxygenase-2 in malignant peripheral nerve sheath tumor and selective cyclooxygenase-2 inhibitor-induced apoptosis by activating caspases in vitro. *PLoS One*, 9(2), e88035, 2014. (査読あり)

##### 〔学会発表〕(計 1 件)

箱崎 道之, 多村 博澄, 田地野 崇宏, 山田 仁, 土橋 悠, 加藤 弘毅, 江崎 淳二, 片

平 清昭, 渡辺 慎哉, 和栗 聡, 紺野 慎一: 軟部明細胞肉腫由来細胞株 FCCS-1 の樹立とその性状の解析. *日本整形外科学会雑誌*, 88(6), S1172, 2014. (第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 大阪, 2014/07/17)

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究代表者

箱崎 道之 (HAKOZAKI Michiyuki)  
福島県立医科大学・医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 兼 医学部整形外科学講座・准教授  
研究者番号: 10583651

##### (2)研究分担者

なし

##### (3)連携研究者

北條 洋 (HOJO Hiroshi)  
福島県立医科大学・会津医療センター・教授  
研究者番号: 90209213

阿部 正文 (ABE Masafumi)  
福島県立医科大学・副学長  
研究者番号: 00045783

紺野 慎一 (KONNO Shinichi)  
福島県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 70254018

菊地 臣一 (KIKUCHI Shinichi)  
福島県立医科大学・学長  
研究者番号: 80045773

##### 研究協力者

田地野 崇宏 (TAJINO Takahiro)  
福島県立医科大学・医学部・客員教授

山田 仁 (YAMADA Hitoshi)  
福島県立医科大学・医学部・講師

多村 博澄 (TAMURA Hirosumi)  
福島県立医科大学・医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター・助教

柳澤 道朗 (YANAGISAWA Michiro)  
弘前大学・医学部

西田 淳 (NISHIDA Jun)

東京医科大学・医学部

永澤 博幸 (NAGASAWA Hiroyuki)  
秋田大学・医学部

土屋 登嗣 (TSUCHIYA Takashi)  
山形大学・医学部

生越 章 (OGOSE Akira)  
新潟大学・医歯学総合病院