



Piroxicam-induced regression of intestinal adenomatous polyps in APC Δ 474 mice

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 邱, 哲夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1214

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 361号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏 名	邱 哲 夫		
論文題目	Piroxicam-induced regression of intestinal adenomatous polyps in APC^{Δ474} mice (ピロキシカムの APC^{Δ474} マウスにおける小腸腺腫性ポリープの抑制について)		

博士(医学) 邱 哲 夫

論文題目

Piroxicam-induced regression of intestinal adenomatous polyps in APC^{Δ474} mice

(ピロキシカムの APC^{Δ474}マウスにおける小腸腺腫性ポリープの抑制について)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

Adenomatous polyposis coli (APC) 遺伝子変異マウスでの腺腫形成においてシクロオキシゲナーゼ (COX) が重要な役割を持つことが報告されているが、そのメカニズムは未だ解明されていない。そこで我々は APC^{Δ474}変異マウスを用いて腺腫形成過程における COX の抑制による抗腺腫効果のメカニズムについて検討した。

〔方法〕

APC^{Δ474}変異マウスに第4週齢から COX-1/2阻害剤 (piroxicam) を飲水中に混ぜて投与した。0.005% piroxicam 液投与群 (P 群)、0.001% 液投与群 (P' 群)、piroxicam を含まない常水投与群 (C 群) に分けた。第12週齢に小腸を摘出し近位10cm を組織学的検討に使用し、ポリープを形態学的に小型腺腫 (正常上皮内に存在し、直径300μm 未満)、大型腺腫 (正常絨毛上皮が破綻し、直径が300μm 以上) の2型に分類した。薄切切片の顕微鏡観察によりポリープ数をカウントし、免疫組織化学染色により細胞増殖 (PCNA index)、COX-1および2、血管内皮増殖因子 (VEGF) の発現を観察した。TUNEL 法により apoptotic index を計測した。残りの遠位小腸より大型腺腫を回収し、ウェスタンブロット法により COX-2、VEGF 蛋白の発現を測定した。

〔結果〕

P 群の大型腺腫の数は C 群に比して有意に減少した ($P < 0.01$) が、小型腺腫の数は両群間に差を認めなかった。腺腫細胞の PCNA index は小型腺腫、大型腺腫ともに P 群で有意に低下しており、また小型腺腫、大型腺腫ともに P 群の apoptotic index は C 群より有意に上昇した。粘膜下の間質細胞 (多分マクロファージ) が COX-2 陽性を示し、その数は piroxicam 投与により容量依存的に抑制された。COX-1 発現は piroxicam 投与により影響を受けなかった。大型腺腫におけるウェスタンブロット法による VEGF 蛋白の発現は piroxicam 投与により有意に抑制された。COX-2 蛋白の発現は抑制されたが有意ではなかった。

〔考察〕

piroxicam は COX-1, 2 の抑制剤である。COX 阻害剤により大型腺腫の数は有意に減少したが、小型腺腫の発生に影響はなかった。この結果は諸家の報告に類似しており、COX が腺腫形成の初期段階ではなく、主として中期以降すなわち腺腫の増大に関与していることが示唆された。COX 阻害剤が細胞増殖の抑制とアポトーシス誘導を引き起こすことが知られているが、我々の実験でも piroxicam に同様の作用が確認された。血管新生は前癌病変においても腫瘍の発育進展に重要な役割を持つことが報告されているが、我々の実験において COX 阻害剤の投与により VEGF 蛋白の発現は有意に抑制され、アポトーシス亢

進、細胞増殖抑制と並んで血管新生抑制が COX 阻害剤の主な作用機序であることが示唆された。

〔結論〕

piroxicam は APC^{Δ474}変異マウスの腺腫形成過程において比較的早期からアポトーシスを亢進し、また腺腫の間質細胞における VEGF を抑制することにより腫瘍抑制的に作用している。

論文審査の結果の要旨

近年大腸癌が急増しその治療成績の向上が望まれている。腸の腺腫形成機序は癌の原因究明に深く関連し注目されている。最近 adenomatous polyposis coli (APC) 遺伝子変異マウスが大腸に腺腫形成を起こすことが報告され、このマウスを用いた腺腫抑制効果をもつ薬剤の検討が可能になった。申請者らはシクロオキシゲナーゼ (COX) が腺腫の増殖、進展に重要な役割を持つことに着目した。申請者らは APC^{Δ474}変異マウスの COX を抑制することにより腺腫形成を低下させ抗腺腫効果があるかを検討した。本実験では COX1 と 2 を抑制する piroxicam を用いている。

APC^{Δ474}変異マウスに第 4 週齢から piroxicam を飲水中に混ぜて投与した。0.005% piroxicam 液投与群 (P 群)、0.001% 液投与群 (P 群)、piroxicam を含まない常水投与群 (C 群) に分けた。第 12 週齢に小腸を摘出し近位 10cm を組織学的検討に使用し、ポリープを形態学的に小型腺腫 (正常上皮内に存在し、直径 300 μ m 未満)、大型腺腫 (正常絨毛上皮が破綻し、直径が 300 μ m 以上) の 2 型に分類した。薄切切片の顕微鏡観察によりポリープ数をカウントし、免疫組織化学染色により細胞増殖 (PCNA index)、COX-1 および 2、血管内皮増殖因子 (VEGF) の発現を観察した。また腺腫の apoptotic index や COX-2、VEGF 蛋白の発現を観察している。

申請者ら次のような結果を得た。

- 1) P 群の大型腺腫の数は C 群に比して有意に減少したが、小型脚腫の数は両群間に差を認めなかった。
- 2) 腺腫細胞の PCNA index は小型腺腫、大型腺腫ともに P 群で有意に低下していた。
- 3) 小型腺腫、大型腺腫ともに P 群の apoptotic index は C 群より有意に上昇した。
- 4) COX-2 陽性細胞数は粘膜下の間質細胞が piroxicam 投与により容量依存的に抑制されたが、COX-1 発現は piroxicam 投与により影響を受けなかった。
- 5) 大型腺腫における VEGF 蛋白の発現は piroxicam 投与により有意に抑制された。しかし、COX-2 蛋白の発現は抑制されたが有意ではなかった。

以上の結果から注目すべき点として 2 つが挙げられる。第 1 に piroxicam が大型腺腫の発生を抑制したこと、第 2 にこの抑制機序として piroxicam による細胞増殖の抑制、アポトーシス誘導、VEGF 蛋白の発現抑制が観察されたことである。Piroxicam は臨床の場で抗炎症剤として使用されているものであり、申請者らの基礎実験は大腸癌の前癌病変を抑制する新しい治療法としての可能性を秘めており、極めて重要な知見であると考えられた。

審査委員会は本論文について、次のような試問を行った。

- 1) piroxicam の COX-1 および 2 の阻害効率について
- 2) piroxicam の濃度設定はいかなる根拠で行ったか
- 3) piroxicam の wild-type マウスにおける変化について
- 4) heterozygote マウスを用いた理由について
- 5) VEGF の isoform の検討について
- 6) 抗 VEGF 抗体の特異性とその性状について
- 7) Western blot のサンプル作成および転写膜について
- 8) アポトーシス誘導と VEGF 発現抑制の関連について
- 9) piroxicam 投与により COX2 の発現が低下する機序について
- 10) piroxicam 投与による small polyp と large polyp の反応の差について
- 11) small polyp から large polyp の進行機構について
- 12) piroxicam によるアポトーシス誘導機序について

これらの試問に対して、申請者からは適切な解答が得られた。問題点も充分理解しており、このことより博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 金 山 尚 裕

副査 浦 野 哲 盟 副査 馬 場 聡