

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
井上拓也	主査 教授 樋口 和秀
	副査 教授 谷川 允彦
	副査 教授 森 浩志
	副査 教授 宮崎 瑞夫
	副査 教授 林 秀行
主論文題名 Therapeutic effect of nimesulide on colorectal carcinogenesis in experimental murine ulcerative colitis (マウス DSS 誘発結腸癌モデルに対する選択的 COX-2 阻害薬の影響)	
学位論文内容の要旨	
<p>《背景》 潰瘍性大腸炎(UC)は原因不明の慢性炎症性腸疾患で、本邦では増加の一途をたどっている。UC には様々な合併症がみられるが、その中で長期経過例における癌および異形成の発生は生命予後の不良さと頻度の高さから晩期合併症として重要な問題と考えられる。一方、cyclooxygenase-2 (COX-2) の発現が腫瘍の増殖進展に関与する可能性が示唆されており、背景粘膜に慢性炎症を持たないヒト大腸腫瘍において COX-2 の選択的阻害剤が腫瘍抑制効果を持つか否かに大きな関心がもたれている。しかし、UC に伴う癌および異形成における選択的 COX-2 阻害薬の役割については不明な点が多い。</p> <p>《目的》 潰瘍性大腸炎のモデルであるマウス DSS 腸炎に対し、DSS を反復投与することにより癌を発生させ、その際 COX-2 選択阻害剤がどのように影響するかを検討した。</p> <p>《対象と方法》 マウス DSS 誘発結腸癌モデルは、7 週齢の雌性 BALB/c マウスに腸炎誘発剤である DSS と COX-2 阻害薬である nimesulide (NIM) とを投与して作出した。それら薬剤の投与方法の違いによってマウスを 5 群に分けた。まず 5%DSS の 7 日間自由飲水と、それに続く 14 日間休薬を 1 サイクルとし、これを 4 サイクル繰り返し、以後の 120 日間を無処置とする A 群(腸炎対照群)、DSS の 4 サイクル投与期間を含めて全実験期間(204 日間)を通して NIM を 400ppm 濃度で飼料に混合し自由摂取させる B 群、NIM の投与を DSS の 4 サイクル投与期間(84 日間)に限る C 群、NIM の投与を DSS 投与終了後の 120 日間とする D 群、全期間を通じて DSS も NIM も一切投与しない E 群(正常対照群)である。各群のマウスは 204 日後に麻酔下で屠殺し、以下の項目を検討した。</p> <p>(1) Disease Activity Index (DAI) 1 サイクルにおける体重減少率、便性状、血便の状態を DAI として点数化し、経時的に記録した。</p> <p>(2) 腫瘍発生率、平均腫瘍径 摘出した大腸を長軸方向・短軸方向にそれぞれ 3 分割し、大腸腫瘍(癌および異形成)の発生を病理</p>	

学的に検索し、腫瘍発生率と平均腫瘍径を検討した。

(3) COX-2 発現度

正常対照群粘膜、腸炎対照群の非癌部粘膜、癌および異形成を COX-2 抗体を用いて免疫染色し、COX-2 の発現度をスコア化した。

(4) 粘膜内 Prostaglandin E₂ (PGE₂) の産生

摘出大腸のホモジェネートを用いて、粘膜内 PGE₂ の産生を EILSA 法にて測定した。

《結果》

(1) Disease Activity Index (DAI)

DSS 投与後 2 日目から血便が出現し始め、DAI は 8 日目まで上昇した。続く 14 日間の休薬の間に DAI は次第に低下し、1 サイクル終了時の 21 日目にはほぼ投与前に回復していた。DSS プラス NIM 投与マウスでは 2 日目から 7 日目までの間、DSS 単独投与マウスに比して有意に DAI の上昇がみられた。

(2) 腫瘍発生率、平均腫瘍径

腫瘍発生率は A 群 28.0%、B 群 15.0%、C 群 11.8%、D 群 2.8%であった。D 群では A 群に比べ、有意に腫瘍発生率が減少していた。平均腫瘍径は各群間に有意差を認めないものの、COX-2 阻害薬投与の B・C・D 群で縮小する傾向がみられた。

(3) COX-2 発現度

癌および異形成組織中の COX-2 発現度は A 群の非癌部粘膜に比べて有意に増強していた。また、有意差を認めないものの、A 群粘膜では E 群に比較して COX-2 の発現度が増強する傾向がみられた。

(4) 粘膜内 PGE₂ の産生

各群における背景粘膜内 PGE₂ 量は A 群が E 群に対して有意に高く、COX-2 阻害薬投与の B 群、D 群が A 群に比べて有意に減少していた。

《考察》

通常の大腸腫瘍における COX-2 発現は正常大腸粘膜に比べ、有意に増加していることが知られており、Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)による腫瘍抑制効果が確認されている。しかし、慢性炎症を有する大腸粘膜を発生母地とする発癌過程における COX-2 の役割は未だ不明な点が多い。また、実験モデルにおいても、これまで non-genotoxic な DSS のみを用いた発癌モデルにおける検討はほとんど報告されていない。本研究のマウス DSS 誘発結腸癌モデルにおいて発生した癌および異形成はともに背景粘膜に比べ COX-2 を有意に強く発現していた。発現部位は間質だけではなく上皮にも強く認められた。通常、大腸腺腫では主として上皮下のマクロファージや線維芽細胞に発現がみられ、上皮細胞に発現が弱いことを考えると、慢性炎症を母地とした発癌にはより強く COX-2 が関与している可能性が示唆された。COX-2 選択阻害剤投与による腫瘍抑制効果については、すべての投与群(B・C・D 群)において腫瘍発生率、平均腫瘍径ともに抑制する傾向を認め、とくに腸炎寛解期(D 群)の投与が最もよく抑制効果を示していた。以上の結果より DSS のみを用いたマウス慢性大腸炎発癌モデルにおいて COX-2 選択阻害剤による腫瘍抑制効果が示された。しかし、一方では COX-2 選択阻害剤は DSS 腸炎を増悪させることが報告されている。本研究においても全期間投与群、腸炎活動期投与群に関しては COX-2 を阻害することによる炎症の増悪が腫瘍発生率に何らかの影響を及ぼし、結果として寛解期投与群ほどの腫瘍抑制効果が得られなかった可能性が否定できず、今後更なる検討が必要かと考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	井上拓也
論文審査担当者		主査 教授 樋口 和秀	
		副査 教授 谷川 允彦	
		副査 教授 森 浩志	
		副査 教授 宮崎 瑞夫	
		副査 教授 林 秀行	
主論文題名 Therapeutic effect of nimesulide on colorectal carcinogenesis in experimental murine ulcerative colitis (マウス DSS 誘発結腸癌モデルに対する選択的 COX-2 阻害薬の影響)			
論文審査結果の要旨			
<p>大腸癌に対して非ステロイド系抗炎症剤が抑制的に作用することは、以前よりよく知られた事実である。しかし、潰瘍性大腸炎に代表されるように、慢性炎症に伴う大腸癌および異形成に対するこれらの薬剤の役割は依然としてよく知られていない。</p> <p>本研究は、潰瘍性大腸炎のモデルであるマウス DSS 腸炎を基盤とし、DSS のみを反復投与することにより結腸癌を誘発し、選択的 COX-2 阻害薬の影響を検討したものである。</p> <p>申請者らは、本研究において、</p> <ol style="list-style-type: none"> ① COX-2 阻害薬の投与によって DSS 腸炎急性期の DAI は有意に増加していたこと。 ② COX-2 阻害薬の投与は、有意に腫瘍の発生率を減少させ、平均腫瘍径も抑制する傾向を示したこと。 ③ COX-2 の発現は、癌および異形成で有意に増強していたが、背景粘膜においてもびまん性に発現度が増強する傾向がみられたこと。 ④ 粘膜内 PGE₂ は disease control の背景粘膜で有意に高く、COX-2 阻害薬投与により減少していたこと。 <p>などを明らかにしている。</p> <p>申請者らの検討結果により、COX-2 阻害薬の投与は DSS 投与急性期の DSS 腸炎を増悪させるが、一方でマウス DSS 誘発結腸癌の発生を減少させる傾向にあり、特に腸炎寛解期における COX-2 阻害剤の投与が大腸癌発生の抑制に有用であることが示唆された。</p> <p>以上により本論文は本学大学院学則第 9 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Journal of Gastroenterology and Hepatology 22(9): 1474-1481, 2007</p>			