

須賀原育子 論文内容の要旨

主 論 文

Cyclooxygenase-2 is involved in the progression of thyroid cancer
(シクロオキシゲナーゼ2は甲状腺癌の進展に関与する)

須賀原育子、安藤隆雄、宇佐俊郎、川上 純、芦澤潔人、宇賀達也、前田茂人、
兼松隆之、江口勝美

ACTA MEDICA NAGASAKIENSIA 2009年6月掲載予定

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻
(指導教授：江口 勝美教授)

緒 言

誘導型シクロオキシゲナーゼであるシクロオキシゲナーゼ2 (COX-2) は、大腸癌など、いくつかの癌で過剰発現しており、それらの癌の進展に関与していることが明らかになっているが、甲状腺癌におけるCOX-2の役割はまだ十分明らかではない。そこで本研究では、甲状腺癌、腺腫、正常甲状腺におけるCOX-2の発現と甲状腺癌細胞増殖におけるCOX-2の役割を選択的COX-2阻害剤の甲状腺癌細胞増殖への効果により検討した。

対象と方法

COX-2の発現を長崎大学病院での手術時標本の甲状腺乳頭癌(n=30)、濾胞癌(n=15)、腺腫(n=12)、正常甲状腺(n=6)組織において抗COX-2抗体による免疫組織染色にて検討した。また、甲状腺癌でのCOX-2の役割を明らかにするため選択的COX-2阻害剤を用いて以下の実験を行った。(i) 甲状腺乳頭癌細胞株(NPA細胞)と濾胞癌細胞株(WRO細胞)に選択的COX-2阻害剤(NS-398)を25~50 μ Mの濃度で添加後、48hr, 72hr, 96hrで細胞数をカウントし、コントロールと比較し細胞増殖への影響を検討した。(ii) 高濃度のNS-398 100 μ M~200 μ M添加での細胞死の有無を観察した。(iii) アポトーシス誘導の有無を検討するためNS-398 100 μ M添加でのNPA細胞のミトコンドリアの膜電位変化をフローサイトメーターで測定した。(iv) NPA細胞を前処置としてNS-398 50 μ M添加の有無で、12hrの無血清で培養後、5分間、ウシ胎児血清で増殖刺激し、MAPキナーゼ: Extracellular signal-regulated kinase(ERK)のリン酸化への影響をウェスタンブロット法にて総ERKとリン酸化ERK蛋白量をコントロールとの比較にて検討した。

結 果

COX-2は、甲状腺乳頭癌で90%、濾胞癌で73.3%と高頻度で、発現強度も強く発現していたが、それに対し、腺腫では25.5%と低く、正常甲状腺組織では発現が認められなかった。NS-398は、濃度依存性に甲状腺乳頭癌細胞株(NPA)と濾胞癌細胞株(WRO)の細胞増殖を抑制し、50 μ Mの濃度で96hr培養後、コントロールと比較してNPA細胞

では 37.7% ($p < 0.01$)、WRO 細胞では 10.9% ($p < 0.05$) の細胞増殖抑制が認められた。NS-398 100 μ M \sim 200 μ M 添加では NPA 細胞に細胞死が誘導された。しかし、同濃度の NS-398 は正常甲状腺初代培養細胞には影響を与えなかった。また、NS-398 100 μ M の濃度 48hr 添加で NPA 細胞のミトコンドリア膜電位は、コントロールと比較し 34.7% の減弱が認められた。COX-2 選択的阻害剤の MAP キナーゼに対する影響の検討では、NS-398 50 μ M の濃度で前処置後の NPA 細胞ではウシ胎児血清による ERK のリン酸化がコントロールに比べ抑制された。

考 察

本研究において、大腸癌や他の癌と同様に甲状腺癌では COX-2 の過剰発現が認められたが、正常甲状腺組織には COX-2 は発現していなかった。また、COX-2 選択的阻害剤を甲状腺癌細胞株に添加することにより、濃度依存性に細胞増殖が抑制され、高濃度では細胞死が誘導された。本研究では COX-2 選択的阻害剤による甲状腺癌の細胞増殖抑制とアポトーシス誘導の機序の一部として MAP キナーゼの抑制とミトコンドリア膜電位の低下が考えられた。これらのことより COX-2 は甲状腺癌の細胞増殖に関与していることが示唆された。