

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第438号	氏名	江口 英利
審査委員会委員	主査氏名	守山 正胤	印
	副査氏名	橋 厚 久司	印
	副査氏名	伊波 菜克	伊波印
論文題目 : Protease-activated receptor-2 regulates cyclooxygenase-2 expression in human bile duct cancer via the pathways of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor kappa B			
論文掲載誌名 : Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences			
論文要旨			
<p>Protease-activated receptor-2 (PAR-2)はトリプシンにより活性化される受容体で、腫瘍増殖や癌浸潤との関連が示唆されている。また cyclooxygenase-2 (COX-2)は胆管癌の発癌や進展に関して重要な役割を担っていると報告されている。我々は膵癌および胆嚢癌と PAR-2 との関連について報告してきた(Yada K, et al. J Surg.Oncology 2005, Iwaki K, et al. Int J Cancer. 2008)。今回、肝外胆管癌における PAR-2、COX-2 の発現、およびヒト胆管癌細胞株における mitogen-activated protein kinase (MAPK)および nuclear factor kappa B (NF-κB)経路を介した PAR-2 活性化による COX-2 発現の細胞内シグナリングについて検討した。対象と方法は、大分大学医学部第一外科において切除された肝外胆管癌 104 例の免疫組織学染色による PAR-2 および COX-2 蛋白の発現の関連と 4 種類の胆管癌細胞株(HuCCT1,MEC,TFK-1,TKKK)の PAR-2 および COX-2 mRNA 定量を real timePCR 法を用いて行った。また、2 種類の胆管癌細胞株(HuCCT1, TKKK)に対して、MAPK または NF-κB のシグナリング経路阻害薬を用いて、PAR-2 活性化ペプチド刺激下での real time PCR 法を用いた COX-2 mRNA 発現および ELISA 法による COX-2 蛋白発現の変化を検討した。</p> <p>肝外胆管癌切除症例において PAR-2、COX-2 は有意な相関関係を認めた。4 種類のヒト胆管癌細胞株における PAR-2 mRNA 発現は HuCCT1 および TKKK において有意に亢進していた。また COX-2 mRNA の発現は HuCCT1 において有意に高値であり、PAR-2 刺激下においても同様であった。ヒト胆管癌細胞株 HuCCT1 および TKKK において、PAR-2 を活性化することにより COX-2 mRNA の発現が亢進し、p44/42 MAPK 阻害剤、p38 MAPK 阻害剤を PAR-2 活性化前に投与することにより COX-2 mRNA 発現が減弱した。また、PAR-2 を活性化することにより COX-2 蛋白の発現が亢進し、p44/42 MAPK 阻害剤、p38 MAPK 阻害剤、NF-κB 阻害剤を PAR-2 の活性化前に投与することにより COX-2 蛋白の発現が減弱した。胆管癌において、PAR-2 は COX-2 に対して MAPK および NF-κB 経路を介した細胞内シグナル調節機能を有しており、胆管癌の増殖、進展に関与する可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、胆管癌において、PAR-2 が MAPK や NF-κB を介して腫瘍増殖に関与する COX-2 発現を調整することを初めて明らかにした意義ある研究であり、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 江口 英利

論 文 題 目

Protease-activated receptor-2 regulates cyclooxygenase-2 expression in human bile duct cancer via the pathways of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor kappa B

(ヒト胆管癌における、mitogen-activated protein kinase および nuclear factor kappa B 経路を介した protease-activated receptor-2 による cyclooxygenase-2 のシグナル調節に関する検討)

要 旨

ア. 緒言(目的). Protease-activated receptor-2 (PAR-2)はトリプシンにより活性化される受容体で、近年、多くの消化器組織や様々な癌細胞に発現を認め、腫瘍増殖や癌浸潤との関連が示唆されている。cyclooxygenase-2 (COX-2)はプロスタグランジンの生成に関与する酵素で、そのシグナリングが胆管癌の発癌や進展に関して重要な役割を担っていると報告されている。当科では胆嚢癌と PAR-2 との関連、および膀胱癌細胞株における PAR-2 と COX-2 との関連、PAR-2 siRNA を用いた膀胱癌細胞に対する抗腫瘍効果について報告してきた。今回、肝外胆管癌における PAR-2、COX-2 の発現、およびヒト胆管癌細胞株における mitogen-activated protein kinase (MAPK)および nuclear factor kappa B (NF- κ B)経路を介した PAR-2 による COX-2 の細胞内シグナリングについて検討した。

イ. 研究対象及び方法(材料を含む) (1)当科で手術を行った肝外胆管癌切除例 104 例に対して PAR-2、COX-2 の免疫染色を行った。(2) 4 種類のヒト胆管癌細胞株を用いて PAR-2、COX-2 の mRNA の発現を real time PCR 法にて定量した。(3)ヒト胆管癌細胞株 HuCCT1 および TKKK の 2 種類を用いて、

PAR-2 活性化ペプチド刺激下に、COX-2 mRNA の発現を real time PCR 法にて、および COX-2 蛋白の発現を ELISA 法にて評価した。また PAR-2 活性化ペプチド投与の 1 時間前に p44/42 および p38 MAPK 阻害剤、NF- κ B 阻害剤を加え、COX-2 mRNA および COX-2 蛋白を測定することにより、細胞内シグナリングの検討を行った。

ウ. 結果 (1) 肝外胆管癌切除症例において PAR-2、COX-2 共に陽性であったのは 104 例中、43 例(41%) であり、有意な相関関係を認めた ($\tau_b=0.2240$, $p<0.05$)。 (2) 4 種類のヒト胆管癌細胞株 (HuCCT1, TFK-1, MEC, TKKK) における PAR-2 mRNA の発現は HuCCT1 および TKKK において有意に亢進していた ($p<0.05$)。また COX-2 mRNA の発現は HuCCT1 において有意に高値であり、PAR-2 刺激下においても同様であった ($p<0.05$)。 (3) ヒト胆管癌細胞株 HuCCT1 および TKKK において、PAR-2 を活性化することにより COX-2 mRNA の発現が亢進し、p44/42 MAPK 阻害剤、p38 MAPK 阻害剤を PAR-2 の活性化前に投与することにより COX-2 mRNA の発現が減弱した。また、PAR-2 を活性化することにより COX-2 蛋白の発現が亢進し、p44/42 MAPK 阻害剤、p38 MAPK 阻害剤、NF- κ B 阻害剤を PAR-2 の活性化前に投与することにより COX-2 蛋白の発現が減弱した。

エ. 考察 近年、ヒト胆管癌細胞において、COX-2 の過剰発現はプロスタグランジン E2 の産生を増加させ、腫瘍増殖を増悪させたとの報告があり、また、選択的 COX-2 阻害薬は、容量依存的に腫瘍増殖を抑制し、細胞周期を停止すると報告された。これらより COX-2 の阻害は、胆管癌の治療に重要な役割を果たす可能性が示唆されている。また、ヒト正常内皮細胞において、PAR-2 の活性化により、MAPK および NF- κ B を介して、COX-2 の発現が亢進すると報告されている。ヒト大腸癌細胞においては、PAR-2 の活性化は MAPK のシグナリングを介して細胞分化を促進し、また、MAPK または NF- κ B 経路を介した COX-2 の産生増加が報告されている。しかし今回の報告までヒト癌細胞において MAPK および NF- κ B を介し、PAR-2 による COX-2 のシグナリングに関する検討はなされていなかった。

オ. 結語 (まとめ) 胆管癌において、PAR-2 は COX-2 に対して MAPK および NF- κ B 経路を介した細胞内シグナル調節機能を有しており、胆管癌の増殖、進展に関与する可能性が示唆された。