

氏名	その園 したまさひろ 大
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第 2690 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in <i>Apc</i> <sup>Δ716</sup> knockout mice ( <i>Apc</i> <sup>Δ716</sup> ノックアウトマウスにおける、プロスタノイド受容体EP2を介した腸管ポリープ形成の促進)
論文調査委員	(主査) 教授 月田承一郎 教授 千葉 勉 教授 中西重忠 教授 武藤 誠

### 論 文 内 容 の 要 旨

これまでの疫学的研究より、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) を服用したヒトでは大腸がんの発症率が非服用群に比べて有意に低いことが明らかになった。この NSAIDs はプロスタグランジン (PG) 産生の律速酵素であるシクロオキシナーゼ (COX) の阻害剤であることから、COX の発現と大腸がん形成の間には密接な関係があることが強く示唆された。当研究室において、ヒト家族性大腸ポリープ症 (FAP) のモデル動物である *Apc*<sup>Δ716</sup>ノックアウトマウスに2つのCOXアイソフォームのうちの一つであるCOX-2遺伝子の欠失型変異を導入、あるいはCOX-2選択的阻害薬を投与したところ、著しいポリープ発症の抑制が観察されたことから、COX-2はポリープ形成に非常に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。しかし、COX-2の下流の種々のPGのうちでポリープ形成に重要な役割を果たしている経路、またその寄与する機序は依然不明であったことから、本研究ではその解明を行った。

まず以下の2つの理由から、PGE<sub>2</sub>が主要な経路であると仮説を立てた。即ち、FAP患者の大腸がん組織中、正常部位に比べて著しい産生量の上昇が見られるのはPGE<sub>2</sub>であること、また各種PGは細胞膜表面に存在する受容体に結合して標的細胞内への情報伝達を行うが、*Apc*<sup>Δ716</sup>マウスのポリープ内で各受容体の発現量を定量、比較したところ、正常部位に比べて最も発現量が上昇していたのは4種あるPGE<sub>2</sub>の受容体の一つであるEP<sub>2</sub>であった。そこで、*Apc*<sup>Δ716</sup>マウスにEP<sub>1</sub>、EP<sub>2</sub>、EP<sub>3</sub>のホモ欠失型遺伝子変異をそれぞれ導入、*Apc*遺伝子との複合変異マウスを作出し、ポリープ形成に及ぼす影響を解析した。EP<sub>4</sub>ホモ欠失体は致死の為、ヘテロ変異体の解析を行った。

この4種の複合変異系統のうちEP<sub>2</sub>変異が、最もポリープ形成の抑制をもたらした。そのポリープの病理像は、COX-2<sup>-/-</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>において観察されたそれと非常に近似したものであった。更に、EP<sub>2</sub><sup>-/-</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>とその対照であるEP<sub>2</sub><sup>+/+</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>のポリープで増殖期にある腫瘍細胞の割合を比較したところ、前者での有意な低下が観察された。一方、EP<sub>1</sub>やEP<sub>3</sub>のホモ接合型変異並びにEP<sub>4</sub>ヘテロ接合変異は、ポリープ形成並びに腫瘍細胞の増殖に影響を及ぼさなかった。これらのことより、EP<sub>2</sub>経路がCOX-2の下流としてポリープ形成に重要であることが明らかになった。

次に、EP<sub>2</sub>経路によるポリープ形成促進機序を探索した。EP<sub>2</sub><sup>-/-</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>とEP<sub>2</sub><sup>+/+</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>のポリープ内でのCOX-2発現量を比較したところ、後者で観察される正常組織に比較しての著しい発現上昇が、前者では観察されなかった。PGE<sub>2</sub>は前立腺がん細胞等においてCOX-2を誘導することから、ポリープ中の間質細胞におけるEP<sub>2</sub>-COX-2-PGE<sub>2</sub>の正のフィードバックループがポリープ内での血管新生因子の発現量及び微小血管密度、更に基底膜の主要構成成分であるラミニンの発現量を比較すると、EP<sub>2</sub><sup>+/+</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>のポリープ内でのそれらの著しい上昇が、EP<sub>2</sub><sup>-/-</sup>*Apc*<sup>Δ716</sup>では見られなかった。

以上の結果より、PGE<sub>2</sub>がEP<sub>2</sub>を介してCOX-2の発現を誘導、それに伴う血管新生や基底膜新生を促し、ポリープ形成を促進することが初めて遺伝学的に立証された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究において申請者は、Cyclooxygenase-2 (COX-2) の下流で腸腫瘍形成に重要な役割を果たすプロスタグランディン (PG) 類の作用機構を解析した。PGsは細胞表面の受容体に結合し細胞内へ情報を伝達するもので、各PG受容体の発現量を家族性大腸腺腫瘍のモデル動物である *Apc*<sup>Δ716</sup>マウスのポリープ内で定量、比較した。その結果ポリープで最も上昇していたのはEP2受容体であった。そこで、PGE<sub>2</sub>とその受容体EP2の役割を確認するために、*Apc*<sup>Δ716</sup>マウスにEP1, EP2, EP3, EP4, 遺伝子変異をそれぞれ導入し、*Apc*<sup>Δ716</sup>マウスのポリープ形成への影響を解析した。結果は、EP2欠失変異のみでポリープ形成の抑制が見られ、COX-2遺伝子変異の影響と近似したポリープ病理像を呈した。更に申請者は、COX-2の発現誘導及び血管新生や基底膜の変化など一連のポリープ形成促進効果が全てPGE<sub>2</sub>とEP2受容体を介しているという重要な発見をした。以上の研究はCOX-2の経路による腸腫瘍形成促進の機序解明に貢献し、腸腫瘍の予防と治療に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年1月9日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。