

論文内容要旨

Elevated expression of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase-1 in primary sclerosing cholangitis: Implications for cholangiocarcinogenesis

(原発性硬化性胆管炎では cyclooxygenase-2 と microsomal
prostaglandin E synthase-1 の発現が亢進し、胆管発がんへの関与
が示唆される)

International Journal of Oncology,43:1073-1079,2013.

主指導教員：茶山 一彰教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田妻 進教授

(病院 総合診療医学)

副指導教員：北台 靖彦准教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

石井 康隆

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

【背景と目的】

原発性硬化性胆管炎（PSC）は胆管壁の線維性肥厚を主体とし、肝内・肝外の胆管に多発性の狭窄を生じる慢性炎症性疾患である。PSCには高率（5～13%）に胆管癌（CCA）が発生するとされており、PSCの予後規定因子の一つであるが、その発がんメカニズムは十分に解明されていない。

PSCのように慢性炎症を発生母地とする消化器癌には、*Helicobacter pylori*感染による萎縮性胃炎と胃癌、B・C型肝炎ウイルス感染による慢性肝炎と肝細胞癌、炎症性腸疾患と大腸癌などがある。これらの疾患では誘導型酵素である cyclooxygenase-2（COX-2）と microsomal prostaglandin E synthase-1（mPGES-1）の発現が亢進しており、両者の作用で産生が亢進した PGE₂ が発がんに関与していると考えられている。PSCに発生する CCA（PSC-associated CCA）も慢性炎症を背景として発生するため、COX-2 や mPGES-1 が発がんに関与している可能性が示唆される。

今回我々は、PSCに発生する CCAの発がんメカニズムを解明することを目的として、PSCにおける COX-2 と mPGES-1 の発現を検討した。

【方法】

広島大学病院にて外科的切除あるいは生検によって組織検体を得た PSC 15 例（PSC-associated CCA 7 例）を対象とした。PSCに無関係な胆管癌（sporadic CCA）を control として使用し、以下の検討を行った。①免疫染色にて COX-2、mPGES-1 の発現を CCA 組織と非腫瘍性胆管上皮で評価した。②PSC の非腫瘍性胆管上皮における COX-2 と mPGES-1 の発現を、CCA 合併の有無で比較した。③細胞増殖活性を評価するために CCA 組織と非腫瘍性胆管上皮における Ki-67 Labeling Index (LI) を分析した。④CCA 組織における COX-2 と mPGES-1 mRNA レベルを real-time reverse transcription-polymerase chain reaction にて分析した。尚、非腫瘍性胆管上皮の Control は、Sporadic CCA の非腫瘍部を用いた。また、非腫瘍性胆管上皮は、肝外胆管～左右肝管の二次分枝までの大型胆管上皮と、隔壁胆管と小葉間胆管といった小型胆管に分けて評価した。

COX-2 と mPGES-1 の免疫染色は、Maximum intensity of staining（0～3点；0 = negative staining、1 = weakly positive staining、2 = moderately positive staining、3 = strongly positive staining）、Most extensive intensity level（0～3点）と Extent of distribution of positive cells（0～3点；0 = negative、1 = 1～33%、2 = 34～66%、3 = 67～100%）の合計スコアで判定した。

【結果】

PSC では、合併した CCA 組織、非腫瘍性大型・小型胆管上皮いずれにおいても COX-2 は高発現していた。CCA 組織、非腫瘍性大型胆管上皮、小型胆管上皮における COX-2

スコアは PSC がそれぞれ 7.57 ± 0.61 、 8.55 ± 0.22 、 6.56 ± 0.75 、control が 2.40 ± 0.78 、 4.13 ± 0.73 、 0.86 ± 0.66 であり、いずれも PSC が有意に高値であった ($P < 0.01$)。mPGES-1 も COX-2 と同様に、PSC では合併した CCA 組織、非腫瘍性大型・小型胆管上皮いずれにおいても発現が亢進していた。CCA 組織、非腫瘍性大型胆管上皮、小型胆管上皮における mPGES-1 スコアは PSC がそれぞれ 6.43 ± 0.40 、 7.09 ± 0.39 、 5.63 ± 0.92 、Control が 4.67 ± 0.72 、 5.21 ± 0.68 、 2.29 ± 0.58 であった。CCA 組織と非腫瘍性大型胆管上皮では有意差はなかったが、PSC が control と比較して高い傾向にあった。一方、非腫瘍性小型胆管上皮では PSC が有意に高値であった ($P < 0.01$)。②CCA を合併した PSC と合併していない PSC で、背景となる非腫瘍性胆管上皮の COX-2 と mPGES-1 発現に差はみられなかった。③PSC-associated CCA 組織と sporadic CCA 組織の Ki-67 LI はそれぞれ 45.6 ± 8.4 、 33.1 ± 8.8 であり、統計学的な有意差はなかったが、PSC-associated CCA のほうが高い傾向にあった。非腫瘍性大型胆管上皮における Ki-67 LI は、PSC が 13.0 ± 5.3 、control が 2.1 ± 1.4 で、PSC が有意に高値であった ($P < 0.05$)。非腫瘍性小型胆管上皮における Ki-67 LI は、PSC が 4.9 ± 3.5 、controls が 0.28 ± 0.28 であり、有意差はなかったが、PSC のほうが高い傾向にあった。④Sporadic CCA と比較して PSC-associated CCA では、COX-2 mRNA レベルが有意に高かった ($P < 0.05$)。一方、mPGES-1 mRNA の発現には両群間で有意差はみられなかった。

【考察】

PSC の非腫瘍性胆管上皮と PSC-associated CCA では COX-2、mPGES-1 とともに高発現しており、PSC では両酵素の共役的な働きによって局所の PGE₂ 産生が促進していると考えられた。PGE₂ は細胞増殖、血管新生、抗アポトーシス、腫瘍細胞の浸潤などの作用を示し、癌の発生・進展に重要や役割を果たしている。これらの作用のなかで細胞増殖作用を評価するために、我々は Ki-67 LI を評価した。PSC では CCA 組織だけでなく、非腫瘍性胆管上皮でも Ki-67 Labe index が control と比較して高値であり、産生が増加した PGE₂ の細胞増殖作用による可能性が示唆された。一方、PSC の非腫瘍性胆管上皮における COX-2 と mPGES-1 の発現には、CCA の合併の有無で差はみられなかった。一酸化窒素による DNA の酸化損傷や遺伝子編集酵素である activation-induced cytidine deaminase による遺伝子変異の生成が、PSC の発がんに関与していることがこれまでに報告されている。このような機序によって遺伝子異常を獲得した胆管上皮細胞が腫瘍を形成し、悪性化が進行する段階に COX-2 と mPGES-1 が関与していることが示唆された。

【結語】

PSC に発生した胆管癌組織と PSC の非腫瘍性胆管上皮では、COX-2 と mPGES-1 が高発現しており、胆管癌の発生と進展に関与している可能性がある。