

Glutathione S-transferase-pi (GSTP1-1) を標的とした消化器癌の化学予防

宮西 浩嗣、高山 哲治、林 毅、信岡 純、
高梨 訓博、古川 孝広、石渡 裕俊、加藤 淳二、新津 洋司郎

札幌医科大学 第四内科

1. はじめに

消化器癌の死亡率は欧米を中心に依然高く、わが国においても近年急速に増加しつつあることから、何らかの有効な予防法の確立が求められている。大腸癌においては、非ステロイド系抗炎症剤 (NSAIDs) の有効性が示唆されているが、その評価は多様であり一定のコンセンサスは得られていない。その理由の一つとして、機序が明確でないことに加え、治療効果の指標として、腺腫が用いられていることが考えられる。つまり腺腫は大きさ、遺伝子異常の集積程度 (K-ras, APC 遺伝子など) がまちまちであり、chemopreventive agent の評価指標としては必ずしも適切ではない。我々はこれまで、拡大内視鏡を用いることによりヒトの aberrant crypt foci (以下 ACF) を *in situ* にて観察し、ACF が adenoma-carcinoma sequence の precursor であること¹⁾、ACF には既に K-ras 遺伝子変異が高率に認められることを明らかにした²⁾。ACF は腺腫の前病変で、遺伝子変化も単純であることから chemopreventive agent の評価対象として格好のものであると考えられる。更に我々は ACF では K-ras 遺伝子変異により解毒酵素である GSTP1-1 が高発現しており³⁾、この GSTP1-1 が抗アポトーシス因子として ACF の生存に有利に働いていることを明らかにした⁴⁾。従って GSTP1-1 を阻害し ACF にアポトーシスを惹起することによる大腸発癌予防の可能性が示唆される。GSTP1-1 活性を阻害する化合物としては利尿剤の一種であるエタクリン酸のほか、

ketoprofen や sulindac などの NSAIDs が知られている。本研究では NSAIDs の GSTP1-1 阻害効果による ACF を標的的病変とした大腸癌化学予防の可能性を検討した。また大腸癌と同様にその前病変が明らかである消化器癌として膵管内乳頭状粘液腺癌が挙げられ、前癌病変として腺腫、更にその前病変として過形成病変が存在する (総じて intraductal papillary mucinous tumor neoplasm; IPMN)。これら前病変にも K-ras 遺伝子変異が高率に生じていることが諸家から報告されており、大腸同様に発癌初期段階から GSTP1-1 の発現が増強している可能性がある。本研究では GSTP1-1 活性阻害による過形成病変を標的的病変とした IPMN 由来膵癌の化学予防の可能性についても検討した。

2. 方法

(1) ヒト大腸 ACF 組織に対する sulindac のアポトーシス誘導効果の検討

拡大内視鏡を用いて生検により得られた ACF 組織を sulindac とともに 3 時間培養し、アポトーシス陽性細胞を Tunel⁴⁾ 法により同定した。また ACF を有する症例に sulindac を 4 日間投与した後 ACF を生検採取し、Tunel 法によりアポトーシス陽性細胞を同定した。

(2) NSAIDs 服用群と非服用群における ACF 陽性率と ACF 数の検討 (cross-sectional study)

他疾患により既に NSAIDs を 1 年以上服用中の

表1 NSAIDs服用群及び非服用群におけるACFの陽性率及び数の検討

NSAIDs服用群36例		NSAIDs非服用群107例	
Aspirin	11例		
Sulindac	10例		
Diclofenac sodium	5例		
Loxoprofen sodium	5例		
Zaltoprofen	5例		
平均年齢	68.5歳	平均年齢	71.1歳
性比	1.2	性比	1.4

36例とNSAIDsを服用していない107例を対象として、既報¹⁾に従い拡大内視鏡を用いてACFを観察し、ACF陽性率とACF数を測定し比較検討した(表1)。

(3) sulindac投与によるACF数の経時的変化の検討 (prospective study)

sulindac投与群8例と非投与群10例を対象に、拡大内視鏡を用いてACFを観察し、ACF陽性率とACF数を測定し比較検討した(図1)。

(4) 膵管内乳頭状粘液腫瘍 (IPMN) におけるGSTP1-1発現の検討

7例のIPMN切除組織におけるGSTP1-1発現を既報³⁾に従い免疫組織染色により評価した。

(5) sulindacによるヒト膵過形成病変抑制効果の検討

IPMN患者のうち、腺腫および癌を有さず過形成病変のみを有する9例にsulindac 300mg/dayを6ヶ月間投与し、乳頭腫瘍高を超音波内視鏡により評価した。

3. 結果

(1) ヒト大腸ACF組織に対するsulindacのアポトーシス誘導効果の検討

*in vitro*においてsulindac処理を行わなかった14検体におけるアポトーシス陽性細胞は平均6.5%であったのに対し、3時間のsulindac処理を

行った14検体におけるアポトーシス陽性細胞は27.8%と、有意にsulindac処理によりアポトーシス陽性細胞が増加した(図2A)。またsulindac投与前後のACFにおけるアポトーシス陽性細胞率は、投与前が5.2%であったのに対し投与後は28.5%とsulindac内服により有意にアポトーシス陽性細胞が増加した(図2B)。

(2) NSAIDs服用群と非服用群におけるACF陽性率とACF数の検討 (cross-sectional study)

NSAIDs非服用群では107例中69例(64.5%)にACFが認められたのに対し、NSAIDs服用群では36例中2例(5.6%)にACFが認められるのみで、NSAIDs服用群で有意にACF陽性率が低下していた。また平均ACF数も非服用群が2.9個であったのに対し服用群では0.06%と服用群では有意にACF数が少なかった(図3)。

(3) sulindac投与によるACF数の経時的変化の検討 (prospective study)

sulindac投与群では12ヶ月の期間で全例のACF数が減少したのに対し、sulindac非投与群では全例のACF数が不変であった(図4)。

(4) 膵管内乳頭状粘液腫瘍 (IPMN) におけるGSTP1-1発現の検討

GSTP1-1陽性率は、癌2/2(100%)、腺腫4/5(80%)、過形成8/9(89%)であり、発癌過程の初期の段階からGSTP1-1が高発現していることが示さ

	NSAIDs投与群8例	NSAIDs非投与群10例
平均年齢(歳)	68.5	68.0
性比	1.3	1.7
平均ACF数	20.6±14.5	14.4±10.8

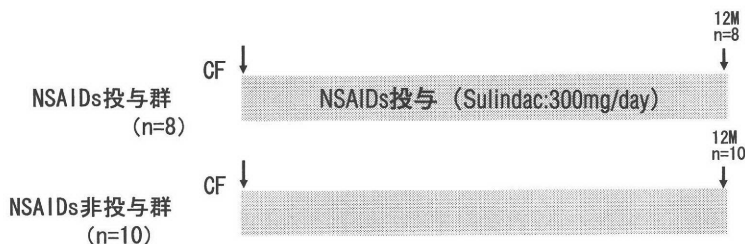


図1 sulindac 投与による ACF 数の経時的変化の検討
sulindac 投与群 8 例と非投与群 10 例を対象とした。矢印は内視鏡施行時期を示す。拡大内視鏡を用いて ACF を観察し、ACF 陽性率と ACF 数を測定し比較検討した。

れた (図 5)。

(5) sulindac によるヒト膵過形成病変抑制効果の検討

対象 9 例中、6 ヶ月経過時点で乳頭腫瘍の縮小が 3 例に認められた。また他の 6 例では乳頭腫瘍の増大は認められなかった。

4. 考察

正常大腸上皮は二次胆汁酸などの作用により絶えずアポトーシスを受けて新陳代謝していることが知られている。しかし、大腸腺腫や癌では何らかの機序によりアポトーシスに抵抗性であることが報告されている。これらの抗アポトーシス因子の一つとして cyclooxygenase (COX)-2 が挙げられている。我々は癌、腺腫のみならず ACF の段階でアポトーシス抵抗性が存在することを見いだしたが、ACF においては COX-2 の発現が認められなかった⁴⁾。GSTP1-1 は大腸癌を含む種々の癌や腺腫などの前癌病変で高発現することが報告されている。我々は GSTP1-1 が ACF においても高率に過剰発現していること³⁾、この GSTP1-1 は

K-ras 遺伝子変異により AP-1 の活性化を介して誘導されること³⁾、さらに GSTP1-1 が二次胆汁酸により誘導されるアポトーシスを抑制することにより、大腸発癌に促進的に作用していることを明らかにしてきた⁴⁾。つまり K-ras 遺伝子変異を有する前癌病変では GSTP1-1 の発現が増強しているためアポトーシス抵抗性を有するが、NSAIDs は GSTP1-1 活性を阻害することによってこれら病変の survival advantage 消失させアポトーシスを誘導することで、癌への進展を予防する可能性が推測される。本研究では sulindac 投与による GSTP1-1 阻害により ACF におけるアポトーシス陽性細胞が増加すること、NSAIDs 服用症例では ACF 陽性率と ACF 数が非服用症例より低下していること、sulindac 投与前後で ACF 数が減少することが明らかとなった。これまでの NSAIDs による大腸発癌予防の臨床試験は主に腺腫を評価対象として行われてきた。すなわち、腺腫患者に発癌予防薬を投与して腺腫が消失するか否かを調べることにより有効性が検討されてきた。しかし、このような臨床試験では効果判定までに最低数年かかること、癌に近い腺腫は薬に反応しない

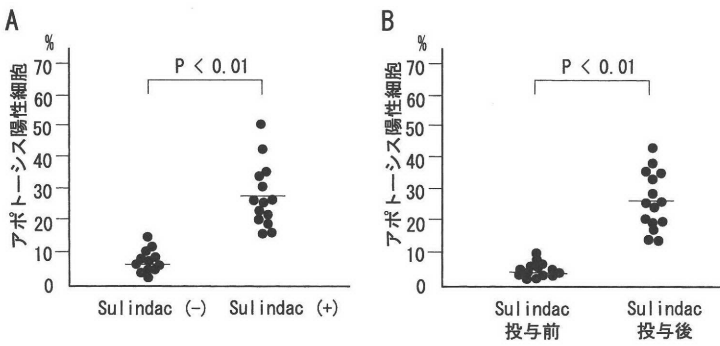


図2 ヒト大腸 ACF 組織に対する sulindac のアポトーシス誘導効果の検討

A : *in vitro*において sulindac 処理を行わなかった14検体におけるアポトーシス陽性細胞は平均6.5%であったのに対し、3時間の sulindac 処理を行った14検体におけるアポトーシス陽性細胞は27.8%と、有意に sulindac 処理によりアポトーシス陽性細胞が増加した。

B : sulindac 投与前後の ACF におけるアポトーシス陽性細胞率は、投与前が5.2%であったのに対し投与後は28.5%と sulindac 内服により有意にアポトーシス陽性細胞が増加した。

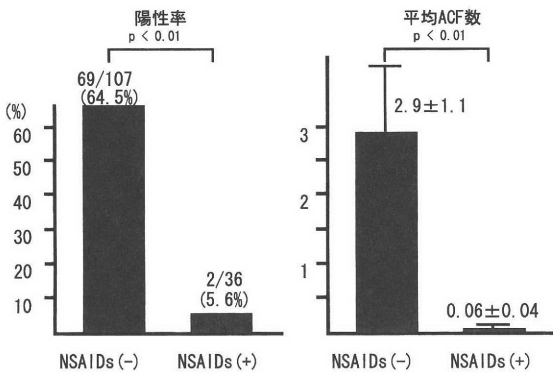


図3 NSAIDs 服用群と非服用群における ACF 陽性率と ACF 数の検討 (cross-sectional study)
NSAIDs 非服用群では107例中69例 (64.5%) に、NSAIDs 服用群では36例中2例 (5.6%) に ACF が認められた。NSAIDs 服用群で有意に ACF 陽性率が低下しており、また平均 ACF 数も非服用群が2.9個であったのに対し服用群では0.06%と服用群で有意に ACF 数が減少した。

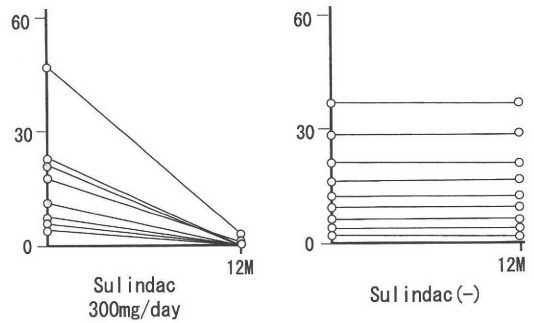


図4 sulindac 投与による ACF 数の経時的変化の検討 (prospective study)
sulindac 投与群では2~12ヶ月の期間で20例全例の ACF 数が減少したのに対し、sulindac 非投与群では7~12ヶ月の観察期間で15例全例の ACF 数が不変であった。

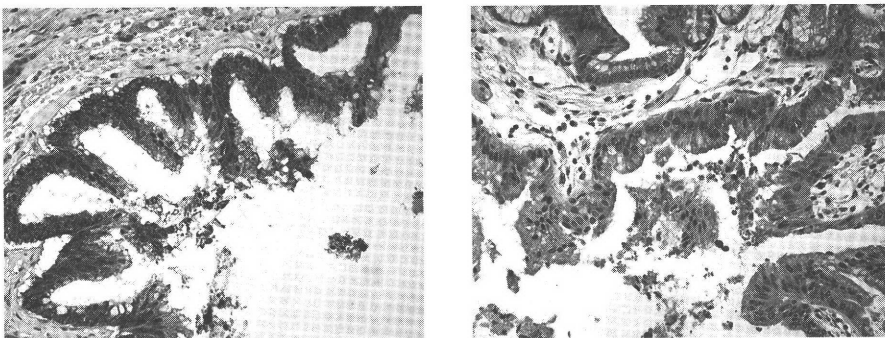


図5 IPMN における GSTP1-1 発現
IPMN の過形成病変 (左) と腺腫病変 (右) の GSTP1-1 染色代表例を示す。

などの問題があり、その有効性を否定する報告も散見される。従ってこれらの問題点を解決するためには腺腫を全て取り除いたうえで、腺腫より早期のより小さい病変を標的的病変とすることが必要である。本研究結果は sulindac をはじめとする NSAIDs の GSTP1-1阻害作用により ACF を標的的病変とした大腸発癌予防の可能性を示唆するものと考えられる。究極的には腺腫ひいては癌の発生抑制を実証する必要があり、現在大規模無作為比較試験を進行中である。

一方の IPMN は WHO、AFIP から提唱された疾患名であり、膵管内増殖を特徴とする膵腫瘍の病理組織学的名称であるが、多くは粘液産生を伴い膵管拡張を示し、しばしば膵嚢胞として発見され、その発見頻度は、画像診断の普及・進歩に伴い増加してきている。IPMN の中には腺癌のほかその前病変である腺腫、過形成病変が加わるため、病変の進行程度により治療が異なる。浸潤癌となれば通常型膵癌と同等に予後が不良であるため、少なくとも非浸潤癌の時点までに手術が必要である。最近では腺腫・腺癌を手術適応例、過形成病変を経過観察可能例とする治療方針が一般的であるが、重篤な併存症のため腺腫が存在しても手術を施行せず経過観察する例が少なくない。非手術適応例（過形成病変ならびに手術不能例）に対しては無治療での経過観察が通常3～6ヶ月毎の画像診断により行われるが、観察中に腺腫あるいは腺癌へと進行する症例が少なからず存在すること⁵⁾や、産生された粘液栓により膵炎を発症することが問題である。これまでに IPMN の薬

物治療に関する研究はなされておらず、IPMN 非手術適応例に対する対応が必要と考えられる。この IPMN では、発癌過程の初期より K-ras 遺伝子変異が高率に生じていることが知られており、本研究では大腸と同様に GSTP1-1の過剰発現も過形成病変の段階から認められることが明らかとなった。また、まだ症例数は十分ではないが、sulindac 投与により過形成病変の縮小効果が1/3の症例に認められていることから、GSTP1-1活性阻害による発癌予防の可能性が示唆された。しかしながら、ACFとは異なり腫瘍抑制効果の発現までには長期間を要することから、長期経過観察が必要であり今後症例を蓄積し検討を継続する予定である。

文献

- 1) Takayama T, Katsuki S, Takahashi Y, *et al.* Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 1277
- 2) Takayama T, Ohi M, Hayashi T, *et al.* Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 2001; 121: 599
- 3) Miyanishi K, Takayama T, Ohi M, *et al.* Glutathione S-transferase-pi overexpression is closely associated with K-ras mutation during human colon carcinogenesis. *Gastroenterology* 2001; 121: 865
- 4) Nobuoka A, Takayama T, Miyanishi K, *et al.* Glutathione S-transferase P1-1 protects aberrant crypt foci from apoptosis induced by deoxycholic acid. *Gastroenterology* 2004; 127: 428