

消化器癌における COX-2 発現：発癌予防，治療の標的として (3)

食道癌と COX-2

東京女子医科大学東医療センター外科

ヨシマツ カズヒコ オガワ ケンジ
吉松 和彦・小川 健治

(受理 平成19年7月19日)

**Expression of COX-2 in Gastrointestinal Cancer: As a Target for Cancer Prevention and Therapy (3)
Esophageal Cancer and COX-2****Kazuhiko YOSHIMATSU and Kenji OGAWA**

Department of Surgery, Tokyo Women's Medical University Medical Center East

Cyclooxygenase-2 (COX-2) derived prostaglandin (PG) E₂ is concerned with multiplication of intestinal cancer, in particular colorectal cancer, and has attracted attention as a preventive or therapeutic target of cancer. In the esophagus, COX-2 overexpression is reported in Barrett's epithelium, esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. It has been suggested that patients with high COX-2 expression have poor prognosis. In squamous cell carcinoma of the esophagus, COX-2 expression is detected in the stage of dysplasia, and its expression is accompanied by enhanced proliferation activity and accumulation of p53. Compared with adenocarcinoma, however there is little correlation with clinicopathological factors. In a duodeno-gastric reflux rat model, COX-2 inhibitor can control the generation of cancer without inhibition of Barrett's esophagus. In a chemical carcinogenesis model, there are two conflicting reports about the effect of COX-2 inhibitor on the incidence and size of tumor. Since *in vitro* studies have shown that COX-2 inhibitor can block the proliferation of Barrett's derived cells and squamous carcinoma derived cells, COX-2 inhibitor is expected to have a preventive or therapeutic effect. Based on the results of clinical use of COX-2 inhibitor, its potential as cancer prevention in patients with reflux esophagitis or Barrett's esophagus and as neoadjuvant therapy before surgery for esophageal cancer is suggested.

Key words: esophageal cancer, cyclooxygenase-2, prostaglandin E₂, COX-2 inhibitor

はじめに

食道癌は消化管悪性腫瘍の中でも悪性度が高く，予後不良な癌の一つである¹⁾。比較的早期からリンパ節転移を来し，治療に苦慮することが多い。したがって，食道癌においても他の癌腫と同様，発癌予防は重要な課題である²⁾。

Prostaglandin (PG) E₂は消化管癌，特に大腸癌で産生が増加しており³⁾，その誘導酵素である cyclooxygenase-2 (COX-2) の過剰発現もみられる⁴⁾。この COX-2 由来の PGE₂ が発癌や腫瘍の増殖に関わることが明らかにされつつあり，臨床的に発癌予防や治療の標的として注目されている。大腸癌，胃癌の稿

で述べた大腸癌や胃癌と同様，食道癌においてもアスピリンの長期服用者はその発生が低率と報告されている⁵⁾。そうした知見に伴い，食道でも Barrett 上皮や食道腺癌，さらには扁平上皮癌でも COX-2 の過剰発現が報告されるようになった (図1)。発癌に関して，胃十二指腸液逆流に伴って発生する Barrett 上皮を発癌母地とする腺癌の研究が多いが，別の化学発癌モデルを用いて食道癌の発癌過程と COX-2 の関わりを検討した報告もみられる。本稿では，①食道癌における COX-2 の発現，② COX-2 inhibitor による食道発癌抑制，③食道癌治療における COX-2 inhibitor の可能性について解説する。

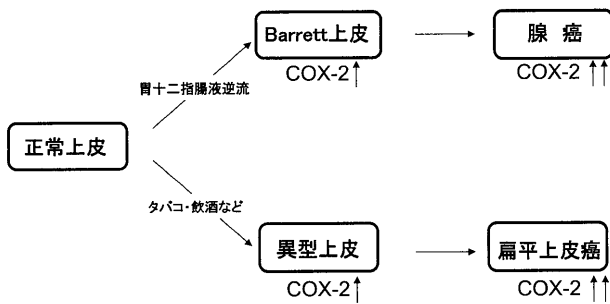


図1 食道の癌化経路とCOX-2の発現
正常上皮から前癌病変、癌へ移行するに従いCOX-2発現が増加する。

1. 食道癌におけるCOX-2の発現

1) 食道腺癌

食道に発生する腺癌は、主に胃十二指腸液逆流に起因するBarrett上皮を発生母地としている⁶⁾。COX-2の発現に関して、正常上皮では発現しないCOX-2がBarrett上皮の段階ですでに過剰発現しており、腺癌でも過剰発現がみられる^{7)~12)}。Barrett上皮では、COX-2の発現と種々の遺伝子や酵素の発現との相関が報告され、Wilsonらは炎症性腸疾患や*Helicobacter pylori*感染性胃炎でCOX-2とともに過剰発現するとされるinducible nitric oxide synthase (iNOS)の発現が亢進していることを報告した⁸⁾。また、転写因子のnuclear factor κB (NFκB)の転写活性の亢進、この下流にあるCOX-2, peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ), gastrinの発現の亢進も示され、これらが治療標的となりうることを示唆されている⁹⁾。さらに腫瘍増殖シグナル伝達に重要な役割を果すepidermal growth factor receptor (EGFR)発現¹⁰⁾や、アポトーシス抵抗性分子であるBcl-2発現¹¹⁾との関連も報告され、Barrett上皮の段階からすでに癌でみられるような形質の獲得が明らかにされている。

腺癌では、Barrett上皮とともに発現がみられた上記の分子に加え、血管新生因子であるvascular endothelial growth factor (VEGF)-AやVEGF-C発現との関連も報告されている¹³⁾。VEGFは種々の癌で報告されている予後不良因子の一つで、COX-2の発現も予後との関連が示唆される。そこで予後との関連をみると、stageに関わるT因子、N因子と関連しており、COX-2発現例の予後は不良と報告されている¹⁴⁾。さらに、多変量解析でCOX-2発現は独立した予後不良因子であるとの報告もみられる^{15)~17)}。

2) 食道扁平上皮癌

扁平上皮癌でも、COX-2の過剰発現が報告されている^{18)~25)}。やはりdysplasiaの段階から過剰発現がみられ、同時に細胞の増殖活性の亢進 (proliferating cell nuclear antigen (PCNA)の上昇)やp53蛋白の蓄積も認められる^{18)~20)}。臨床病理学的因子との相関は現在のところ一定の見解はなく、組織学的分化度について低分化で高発現との報告²¹⁾や逆に高分化で高発現との報告²⁰⁾、stageに相関するとの報告^{20)~22)}やしないとの報告²³⁾がみられる。予後についても関連しないとするもの^{17)~19)24)25)}、単変量では関連するが多変量では関連しないとの報告^{20)~23)}など、食道腺癌に比べ扁平上皮癌では臨床病理学的因子との関連は少ない。

2. COX-2 inhibitorによる食道発癌抑制 (表)

1) 胃十二指腸液逆流による食道腺癌発癌モデル

胃十二指腸液の逆流によるラットの食道癌発生モデルでは、十二指腸液の逆流によりCOX-2発現が誘導されている²⁶⁾²⁷⁾(図2)。同モデルに対するCOX-2 inhibitorの効果、すなわち食道癌発生抑制効果についてButtarら²⁸⁾はMF tricyclicとsulindacを用いて検討し、両者に発癌抑制効果を認めている。さらに、COX-2 inhibitorは逆流により誘発された炎症部におけるCOX-2活性とPGE₂産生を抑制することも確認された。しかし、Barrett食道の発生に対する抑制効果は観察されなかった。また、COX-2 inhibitorとしてcelecoxibを用いた検討²⁹⁾では、コントロール群で食道炎、円柱上皮の発生、腺癌の発生が10週目から観察され、経時的にその発生率は上昇したのに対し、celecoxib投与群の食道炎は軽度で、円柱上皮の発生率も有意に低率であった。とくに腺癌の発生は経過中認められず、発癌を予防し得た。COX-2の発現は主に炎症部の食道粘膜の間質にみられ、PGE₂産生や細胞増殖活性は両群ともに亢進していたが、コントロール群に比べcelecoxib投与群では軽微に留まった。

2) 化学発癌モデル

食道発癌モデルとしてF344ラットとN-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)を用いた実験がいくつか報告されているが、同モデルにおけるCOX-2 inhibitorの発癌抑制効果については正反対の2つの報告がみられる。Liら³⁰⁾はCOX-2 inhibitorであるJTE522を用いて検討し、30mg/kgの間欠投与群では腫瘍の大きさは不変であったが発生数は62%減少し、9mg/kgの週5日投与群では発生数が29%、

表 ラット発癌モデルにおける COX-2 inhibitor の発癌抑制効果

モデル	COX-2 inhibitor	PGE ₂ 産生抑制	前癌病変の抑制	発癌の抑制
胃十二指腸液逆流	MF tricyclic	+	-	+
	sulindac	+	-	+
	celecoxib	+	+	+
化学発癌	JTE522	+	+	+
	piroxicam	+	NE	-

NE ; not evaluated.

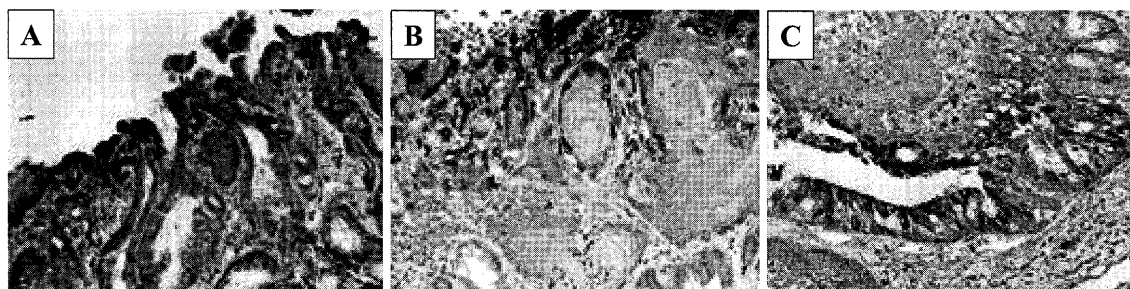


図2 胃十二指腸液逆流モデル（ラット）における COX-2 の発現

(A) Short Barrett 食道, (B) Long Barrett 食道では上皮下の間質細胞に発現し, (C) 異型 Barrett 食道では異型円柱上皮にも発現がみられる (文献 27 より抜粋, 転載の許諾済).

大きさも 44% 減少し, さらに発生した腫瘍の癌への移行も阻止したと報告している. 本モデルの腫瘍では COX-2 の発現亢進がみられ, PGE₂ 産生も増加している. JTE522 はその COX-2 発現は阻止しないが, PGE₂ 産生は抑制しており, こうした結果から COX-2 inhibitor は食道癌の予防に有用と結論している. 一方, COX-2 inhibitor として piroxicam を用いた検討³¹⁾では, その 200ppm と 400ppm を投与した治療群とコントロール群との間で腫瘍の発生頻度, 個数, 大きさに差を認めないとの結果であった. 大腸癌の発癌モデルでは有用とされる³²⁾³³⁾ piroxicam が食道癌には無効であった原因として, 食道発癌には COX だけではなく lipoxygenase (LOX) 由来の eicosanoid も重要であることがあげられ, この関わりを示唆している. しかし, 先に述べた JTE522 では良好な結果が得られており, 化学発癌を用いたモデルにおける COX-2 inhibitor の有用性の評価は, 薬剤も含めさらなる検討が必要と考えられる.

3. 食道癌治療における COX-2 inhibitor の可能性 (図 3)

酸逆流と COX-2 の発現に関して, Barrett 腺癌由来細胞 SEG-1 を用いた検討³⁴⁾では, 酸の曝露で SEG-1 の生細胞率と細胞数の増加が観察され, COX-2 inhibitor の JTE522 がこれら酸の効果を抑制した. ま

た胃癌の稿でも述べたが, 酸によって ERK/MAP kinase 系が活性化され, COX-2 が誘導されることが証明された.

Barrett 食道患者の生検組織から得られた継代培養細胞を用いた検討では³⁵⁾, COX-2 の発現は亢進しており, 培養細胞を COX-2 inhibitor の NS398 で処理するとその増殖活性は抑制された. さらにこの状態に PGE₂ を添加すると NS398 の抑制効果は解除された. これら 2 つの実験成績から COX-2 inhibitor には Barrett 食道細胞に対する増殖抑制効果がみられ, 発癌に対する化学予防効果が期待される.

一方, 扁平上皮癌では食道扁平上皮癌細胞株 EC-9706 を用いた検討³⁶⁾があり, COX-2 inhibitor の NS398 は caspase-3 を活性化することでアポトーシスを誘導し, 細胞増殖を抑制すると報告されている. 扁平上皮癌においても, COX-2 inhibitor が何らかの治療効果を発揮する可能性を示唆する成績と考えられる.

COX-2 inhibitor の臨床応用については, Barrett 食道に対するものと食道腺癌に対する術前投与の報告がある. Kaur らは Barrett 食道に対し, rofecoxib 25mg を 10 日間投与してその前後で COX-2 発現, PGE₂ 産生, PCNA 発現を検索し, これらのいずれもが低下することを確認した³⁷⁾. 逆流性食道炎患者に

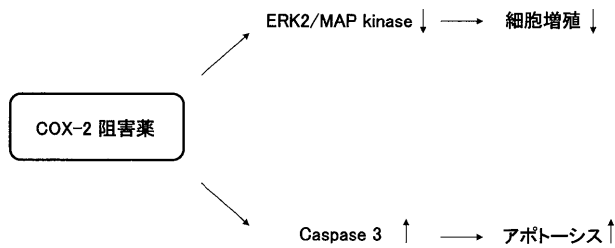


図3 食道癌治療における COX-2 inhibitor の効果発現機序

対する逆流防止手術が食道粘膜の COX-2 発現を正常化する報告³⁸⁾を併せて考えれば、食道粘膜に対する酸曝露の回避と COX-2 inhibitor の投与で逆流性食道炎や Barrett 食道患者における発癌予防効果が期待される。

一方、Tuynman らは食道腺癌患者 12 名に cercecoxib 400mg を術前に 4 週間投与し、15 名の対照患者と比較した³⁹⁾。その結果、COX-2 発現の低下と種々の癌で浸潤や播種との関連が知られている癌遺伝子 MET の発現の低下がみられたと報告しており、COX-2 inhibitor は Barrett 食道の発癌予防だけではなく、食道腺癌の術前療法としての可能性も示唆される。

おわりに

以上、食道癌における COX-2 の発現、発現抑制や治療などにおける COX-2 inhibitor の可能性について解説した。COX-2 由来の PGE₂ は食道癌の発癌や増殖に確実に関わっており、大腸癌、胃癌の稿でも述べたように、今後は mPGES-1⁴⁰⁾ や 15-PGDH⁴¹⁾⁴²⁾ など他の PGE₂ の代謝に関わる酵素についても検討が必要であろう。さらに PGE₂ の細胞側のレセプターである EP receptor のアンタゴニストが食道癌細胞株の増殖や運動能を抑制するとの報告⁴³⁾ もみられ、これら関連分子についてのさらなる検討も期待したい。

文 献

- 1) Enzinger PC, Mayer RJ: Esophageal cancer. N Engl J Med **349**: 2241-2252, 2003
- 2) Holmes RS, Vaughan TL: Epidemiology and pathogenesis of esophageal cancer. Semin Radiat Oncol **17**: 2-9, 2007
- 3) Rigas B, Goldman IS, Levine L: Altered eicosanoid levels in human colon cancer. J Lab Clin Med **122**: 518-523, 1993
- 4) Sano H, Kawahito Y, Wilder RL et al: Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. Cancer Res **55**: 3785-3789, 1995
- 5) Corley DA, Kerlikowske K, Verma R et al: Protective association of aspirin/NSAIDs and esophageal cancer: a systematic review and meta-analysis. Gastroenterology **124**: 47-56, 2003
- 6) Paull A, Trier JS, Dalton MD et al: The histologic spectrum of Barrett's esophagus. N Engl J Med **295**: 476-480, 1976
- 7) Morris CD, Armstrong GR, Bigley G et al: Cyclooxygenase-2 expression in Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. Am J Gastroenterol **96**: 990-996, 2001
- 8) Wilson KT, Fu S, Ramanujam KS et al: Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. Cancer Res **58**: 2929-2934, 1998
- 9) Konturek PC, Nikiforuk A, Kania J et al: Activation of NFκ B represents the central event in the neoplastic progression associated with Barrett's esophagus: a possible link to the inflammation and overexpression of COX-2 PPARγ and growth factors. Dig Dis Sci **49**: 1075-1083, 2004
- 10) Li Y, Wo JM, Ray MB et al: Cyclooxygenase-2 and epithelial growth factor receptor up-regulation during progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma. World J Gastroenterol **14**: 928-934, 2006
- 11) Shimizu D, Vallbohmer D, Kuramochi H et al: Increased cyclooxygenase-2 (cox-2) gene expression in the progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma correlates with that of Bcl-2. Int J Cancer **119**: 765-770, 2006
- 12) Abdalla SL, Lao-Sirieix P, Novelli MR et al: Gastrin-induced cyclooxygenase-2 expression in Barrett's carcinogenesis. Clin Cancer Res **10**: 4784-4792, 2004
- 13) von Rahden BH, Stein HJ, Puhlinger F et al: Co-expression of cyclooxygenases (COX-1, COX-2) and vascular endothelial growth factors (VEGF-A, VEGF-C) in esophageal adenocarcinoma. Cancer Res **65**: 5038-5044, 2005
- 14) Bhandari P, Bateman AC, Mehta RL et al: Prognostic significance of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in patients with surgically resectable adenocarcinoma of the oesophagus. BMC Cancer **6**: 134-142, 2006
- 15) Buskens CJ, Van Rees BP, Sivula A et al: Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in patients with adenocarcinoma of the esophagus. Gastroenterology **122**: 1800-1807, 2002
- 16) France M, Drew PA, Dodd T et al: Cyclo-oxygenase-2 expression in esophageal adenocarcinoma as a determinant of clinical outcome following esophagectomy. Dis Esophagus **17**: 136-140, 2004
- 17) Heeren P, Plukker J, van Dullemen H et al: Prognostic role of cyclooxygenase-2 expression in esophageal carcinoma. Cancer Lett **225**: 283-289, 2005
- 18) Shamma A, Yamamoto H, Doki Y et al: Up-regulation of cyclooxygenase-2 in squamous carcinogenesis of the esophagus. Clin Cancer Res **6**: 1229-1238, 2000

- 19) **Yu HP, Xu SQ, Liu L et al:** Cyclooxygenase-2 expression in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer Lett* **198**: 193–201, 2003
- 20) **Yang GZ, Li L, Ding HY et al:** Cyclooxygenase-2 is over-expressed in Chinese esophageal squamous cell carcinoma, and correlated with NF-kappaB: an immunohistochemical study. *Exp Mol Pathol* **79**: 214–218, 2005
- 21) **Nozoe T, Ezaki T, Kabashima A et al:** Significance of immunohistochemical expression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Am J Surg* **189**: 110–115, 2005
- 22) **Okawa T, Naomoto Y, Nobuhisa T et al:** Heparanase is involved in angiogenesis in esophageal cancer through induction of cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res* **11**: 7995–8005, 2005
- 23) **Liu JF, Jamieson G, Wu TC et al:** Cyclooxygenase-2 expression in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Dis Esophagus* **19**: 350–354, 2006
- 24) **Sivula A, Buskens CJ, vanRees BP et al:** Prognostic role of cyclooxygenase-2 in neoadjuvant-treated patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Int J Cancer* **116**: 903–908, 2005
- 25) **Zhang W, Wang L, Chang A et al:** Immunohistochemical analysis of cyclooxygenase-2 expression in premalignant and malignant esophageal glandular and squamous lesions in Cixian, China. *Cancer Detect Prev* **27**: 243–249, 2003
- 26) **Zhang F, Altorki NK, Wu YC et al:** Duodenal reflux induces cyclooxygenase-2 in the esophageal mucosa of rats: evidence for involvement of bile acids. *Gastroenterology* **121**: 1391–1399, 2001
- 27) **Jang TJ, Min SK, Bae JD et al:** Expression of cyclooxygenase 2, microsomal prostaglandin E synthase 1, and EP receptors is increased in rat oesophageal squamous cell dysplasia and Barrett's metaplasia induced by duodenal contents reflux. *Gut* **53**: 27–33, 2004
- 28) **Buttar NS, Wang NK, Leontovich O et al:** Chemoprevention of esophageal adenocarcinoma by COX-2 inhibitors in an animal model of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* **122**: 1101–1102, 2002
- 29) **Oyama K, Fujimura T, Ninomiya I et al:** A COX-2 inhibitor prevents the esophageal inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence in rats. *Carcinogenesis* **26**: 565–570, 2005
- 30) **Li Z, Shimada Y, Kawabe A et al:** Suppression of N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)-induced esophageal tumorigenesis in F344 rats by JTE-522, a selective COX-2 inhibitor. *Carcinogenesis* **22**: 547–551, 2001
- 31) **Carlton PS, Gopalakrishnan R, Gupta A et al:** Piroxicam is an ineffective inhibitor of N-nitrosomethylbenzylamine-induced tumorigenesis in the rat esophagus. *Cancer Res* **62**: 4376–4382, 2002
- 32) **Reddy BS, Nayini J, Tokumo K et al:** Chemoprevention of colon carcinogenesis by concurrent administration of piroxicam, a nonsteroidal antiinflammatory drug with D, L-alpha-difluoromethylornithine, an ornithine decarboxylase inhibitor, in diet. *Cancer Res* **50**: 2562–2568, 1990
- 33) **Jakoby RF, Marshall DJ, Newton MA et al:** Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the Apc Min mouse model by the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam. *Cancer Res* **56**: 710–714, 1996
- 34) **Souza RF, Shewmake K, Pearson S et al:** Acid increases proliferation via ERK and p38 MAPK-mediated increases in cyclooxygenase-2 in Barrett's adenocarcinoma cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **287**: G743–G748, 2004
- 35) **Buttar NS, Wang KK, Anderson MA et al:** The effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition in Barrett's esophagus epithelium: an in vitro study. *J Natl Cancer Inst* **94**: 422–429, 2002
- 36) **Yu HP, Shi LY, Lu WH et al:** Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human esophageal cancer and in vitro inhibition by a specific COX-2 inhibitor, NS-398. *J Gastroenterol Hepatol* **19**: 638–642, 2004
- 37) **Kaur BS, Khamnehi N, Irvani M et al:** Rofecoxib inhibits cyclooxygenase 2 expression and activity and reduces cell proliferation in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* **123**: 60–67, 2002
- 38) **Vallbohmer D, DeMeester SR, Oh DS et al:** Antireflux surgery normalizes cyclooxygenase-2 expression in squamous epithelium of the distal esophagus. *Am J Gastroenterol* **101**: 1458–1466, 2006
- 39) **Tuynman JB, Buskens CJ, Kemper K et al:** Neoadjuvant selective COX-2 inhibition down-regulates important oncogenic pathways in patients with esophageal adenocarcinoma. *Ann Surg* **242**: 840–849, 2005
- 40) **Yoshimatsu K, Golijanin D, Paty PB et al:** Inducible microsomal prostaglandin E synthase is over-expressed in colorectal adenomas and cancer. *Clin Cancer Res* **7**: 3971–3976, 2001
- 41) **Backlund MG, Mann JR, Holla VR et al:** 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is down-regulated in colorectal cancer. *J Biol Chem* **280**: 3217–3223, 2005
- 42) **Myung SJ, Rerko RM, Yan M et al:** 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is an in vivo suppressor of colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 12098–12102, 2006
- 43) **Piazuelo E, Jimenez P, Strunk M et al:** Effects of selective PGE2 receptor antagonists in esophageal adenocarcinoma cells derived from Barrett's esophagus. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* **81**: 150–161, 2006