

Mini Review

メロキシカムによる非小細胞肺癌の増殖抑制効果

坪内康則¹⁾, 川人 豊¹⁾, 佐野 統²⁾, 吉川敏一¹⁾¹⁾京都府立医科大学膠原病・リウマチ・アレルギー内科学部門 生体機能制御学²⁾兵庫医科大学総合内科学リウマチ・膠原病科*Meloxicam inhibits the growth of non-small cell lung cancer*

Cyclooxygenase(COX)-2 has been reported to play an important role in carcinogenesis. Meloxicam (preferential COX-2 inhibitor) inhibits the growth of COX-2 expressing and COX-1 negative colorectal cancer cells. We evaluated the effects of meloxicam on the growth of lung cancer. By reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) and western blot analysis, COX-2 but not COX-1 was expressed in human non-small cell lung cancer(NSCLC) cell lines (A549 and PC14). In human small cell lung cancer(SCLC) cell line (H841), both COX-1 and COX-2 were not detected. MTT assay and prostaglandin(PG) E₂ enzyme immunoassay showed that meloxicam inhibited the growth and PGE₂ production of both A549 and PC14 but not H841 cells. These findings suggest that COX-2 may play an important role in the pathogenesis and progression of NSCLC and that meloxicam may be a useful therapeutic agent in the treatment of NSCLC.

Rec.10/24/2004, Acc.11/1/2004, pp177-180

Yasunori Tsubouchi¹⁾, Yutaka Kawahito¹⁾, Hajime Sano²⁾ and Toshikazu Yoshikawa¹⁾¹⁾Inflammation and Immunology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine²⁾Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine**Key words** meloxicam, lung cancer, growth, cyclooxygenase-2, prostaglandin E₂

はじめに

肺癌は予後不良で化学療法，放射線療法に抵抗性である．近年，非ステロイド抗炎症薬(non-steroidal antiinflammatory drugs; NSAIDs)や peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)- リガンドなど新しい癌治療薬としての可能性が報告されている^{1,2)}．

NSAIDsはcyclooxygenase(COX)を抑制してその作用を発揮することが知られている．COX はアラキドン酸を基質として prostaglandins(PGs)を産生し，PGsは炎症の際に産生増強される³⁾．非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer; NSCLC)ではCOX発現が強いが，小細胞肺癌(small cell lung cancer; SCLC)のアラキドン酸代謝は lipoxigenase(LOX)経路を介する⁴⁾．

COX には2つのアイソザイムが存在し，COX-1 が全ての組織に普遍的に存在するのに対して，COX-2 はサイト

カインにより誘導され炎症組織で発現誘導される⁵⁾．

COX-2の発現増強は大腸癌，胃癌，食道癌，膵臓癌，肝臓癌，乳癌，膀胱癌，前立腺癌，肺癌等でみられ，発癌，増殖に重要な役割を担うことが示唆される⁶⁾．COX-2選択的阻害薬メロキシカムはCOX-2陽性COX-1陰性大腸癌の細胞増殖を抑制する⁷⁾．また，アスピリン，インドメタシン，イブプロフェン等によりCOX-1，COX-2陽性NSCLCの細胞増殖が抑制される¹⁾．

今回，メロキシカムを用いてCOX-2陽性肺癌およびCOX-2陰性肺癌における細胞増殖抑制効果について検討した．

方法と結果

1)ヒト肺癌培養細胞におけるCOX-1，COX-2発現NSCLC(A549，PC14)，SCLC(H841)におけるCOX-1，

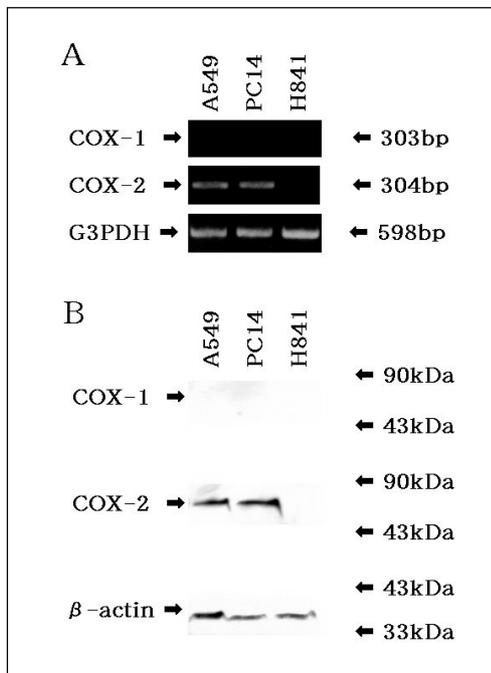


図1 ヒト肺癌培養細胞におけるCOX発現
A549, PC14, H841におけるCOX-1, COX-2,
G3PDHのmRNA発現(A)をRT-PCR法で検討
した。COX-1, COX-2, β -actinの蛋白発現(B)
をwestern blot法で検討した。

COX-2 mRNA発現をRT-PCR法で検討した。いずれもCOX-1 mRNA発現はみられなかった。COX-2 mRNA発現はA549, PC14でみられ、H841ではみられなかった(図1A)。

同様にCOX-1, COX-2蛋白発現をwestern blot法で検討した。いずれもCOX-1蛋白発現はみられなかった。COX-2蛋白発現はA549, PC14でみられ、H841ではみられなかった(図1B)。

2) ヒト肺癌培養細胞におけるメロキシカムの増殖抑制効果
次に10, 50, 100 μ M各濃度のメロキシカム存在下で肺癌細胞株を培養し、3日後の生存率をMTT法で検討した。メロキシカムはA549, PC14の生存率を有意に低下させ、IC50はそれぞれ60, 80 μ Mであった。しかし、H841の生存率は低下させなかった(図2)。

第1, 2, 3日目の細胞数を測定した。メロキシカムはA549, PC14の細胞増殖を濃度依存的に抑制したが、H841の細胞増殖は抑制しなかった(図3)。

3) ヒト肺癌培養細胞のPGE₂産生におけるメロキシカムの抑制効果

メロキシカム存在下4時間以内の培養では生存率に影響しなかった。そこで3時間培養後アラキドン酸を添加し、1時間後のPGE₂産生をEIA法で検討した。メロキシカム

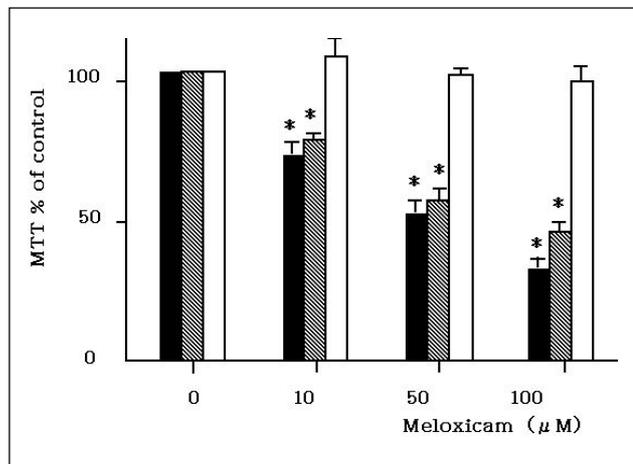


図2 ヒト肺癌培養細胞の生存率におけるメロキシカムの抑制効果

A549 (黒塗り), PC14 (斜線), H841 (白塗り)を10, 50, 100 μ M各濃度のメロキシカム存在下で培養し3日後の生存率をMTT法で検討した。

はA549, PC14のPGE₂産生を濃度依存的に抑制しIC50は、それぞれ20, 60 μ Mであった。一方、H841ではPGE₂産生自体がA549, PC14の90%以下と少なく抑制効果も認めなかった(図4)。

4) ヒト肺癌培養細胞のCOX-2発現に対するメロキシカムの効果

10, 50, 100 μ M各濃度のメロキシカム存在下で4時間培養後、A549, PC14のCOX-2蛋白発現をwestern blot法で検討した。その結果、COX-2蛋白発現は抑制されず、COX活性が抑制されることが示唆された(図5)。

考察

NSAIDs常用者では大腸癌のリスクが40~50%低下すると言われている⁸⁾。さらにヒト胃癌、膵臓癌、乳癌、前立腺癌でNSAIDsによる増殖抑制効果も報告されている⁹⁾。

COX-2陽性COX-1陽性肺癌の細胞増殖は従来のNSAIDsにより抑制される¹⁾。COX-2がNSAIDsの標的ならばCOX-2選択的阻害薬がCOX-2陽性COX-1陰性癌の細胞増殖を抑制するはずである。メロキシカムはCOX-2陽性COX-1陰性大腸癌の細胞増殖を抑制し、COX-2陰性COX-1陰性大腸癌には影響しないと報告されている⁷⁾。

肺癌ではNSCLCとSCLCでアラキドン酸代謝経路が異なり前者はCOX、後者はLOXを介することが広く知られている⁴⁾。今回、メロキシカムの細胞増殖抑制効果はCOX-2陽性COX-1陰性NSCLCでのみみられ、臨床使用時の濃度10 μ Mで有意差を認めた。その効果発現前にPGE₂産生抑

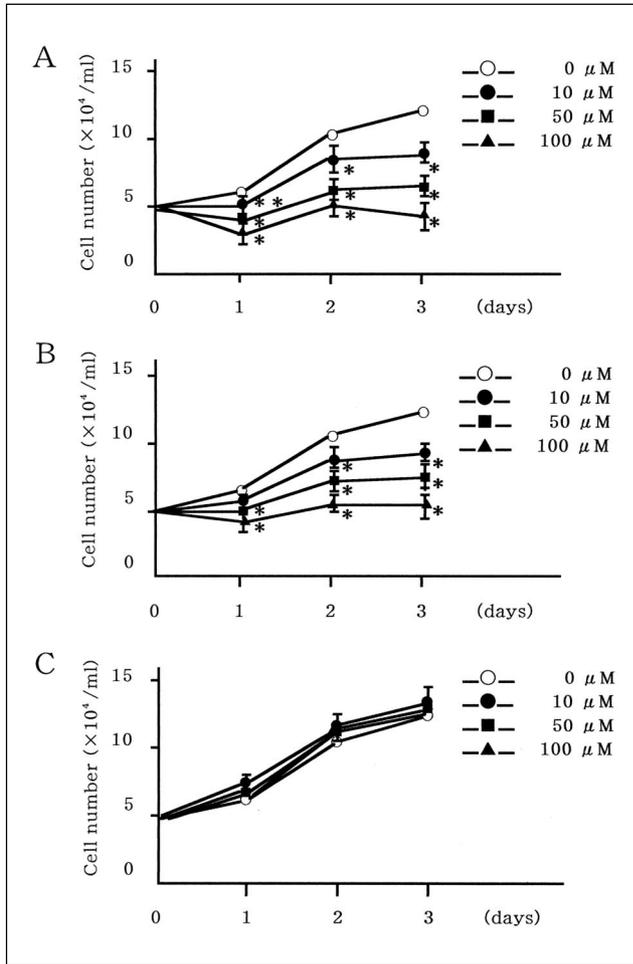


図3 ヒト肺癌培養細胞におけるメロキシカムの増殖抑制効果

A549, PC14, H841 を 10, 50, 100 μM 各濃度のメロキシカム存在下で培養し第 1, 2, 3 日目の細胞数を測定した。

制効果がみられ, COX-2 発現抑制ではなく COX-2 活性抑制由来と考えられた。

近年, 高用量の NSAIDs が PPAR- を活性化させると言われている¹⁰⁾. われわれは PPAR- が COX-2 陽性 COX-1 陰性 NSCLC, COX-2 陰性 COX-1 陰性 SCLC とともに発現し, そのリガンドによりアポトーシスが誘導され, 細胞増殖を抑制することを報告した²⁾. 今回, 100 μM という高濃度のメロキシカムでもアポトーシスを誘導せず, COX-2 陰性 COX-1 陰性 SCLC の細胞増殖は抑制されなかったことから, 細胞増殖抑制効果は PPAR- 活性化を介さず, COX-2 活性抑制によることが示唆される。

COX-2 は thromboxane A₂, PGE₂, PGI₂ などのアラキドン酸代謝産物を介して血管新生を増強し腫瘍増殖を促進する¹¹⁾. 最近, COX-2 選択的阻害薬メロキシカムは乳癌, 肝臓癌の細胞増殖を抑制することが報告されている^{12, 13)}.

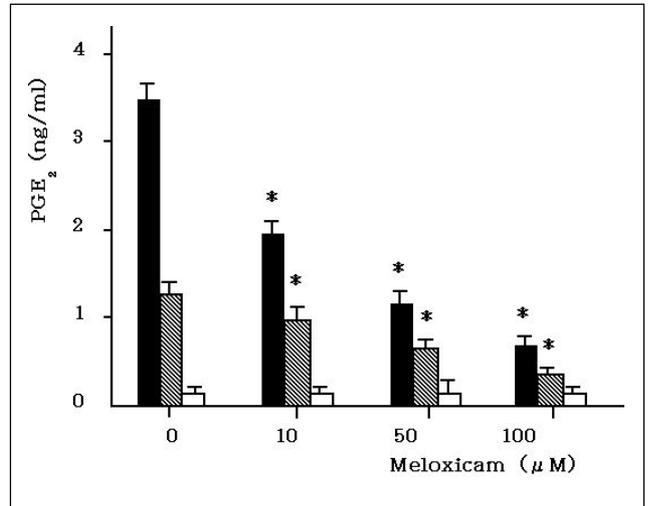


図4 ヒト肺癌培養細胞のPGE₂産生におけるメロキシカムの抑制効果

A549 (黒塗り), PC14 (斜線), H841 (白塗り) を 10, 50, 100 μM 各濃度のメロキシカム存在下で 3 時間培養し, アラキドン酸添加 1 時間後の PGE₂ 産生を EIA 法で検討した。

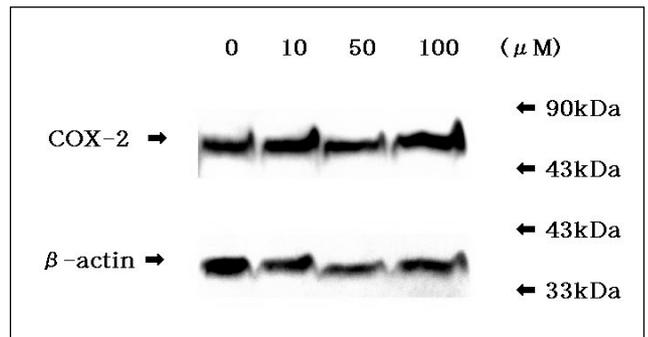


図5 ヒト肺癌培養細胞のCOX-2発現におけるメロキシカムの効果

A549, PC14 を 10, 50, 100 μM 各濃度のメロキシカム存在下で 4 時間培養し, COX-2, β-actin の蛋白発現を Western blot 法で検討した。

NSCLC の発癌, 増殖には COX-2 の存在が重要と考えられ, 副作用が少ないメロキシカムは化学療法, 放射線療法と組み合わせることにより有効な治療薬となる可能性がある。

文 献

1) Hida T, Leyton J, Makheja AN, Ben-av P, Hla T, Martinez A, Mulshine J, Malkani S, Chung P, Moody TW: Non-small cell lung cancer cyclooxygenase activity and proliferation are inhibited by non-steroidal antiinflammatory drugs. Anticancer Res, 18: 775-782, 1998.

- 2) Tsubouchi Y, Sano H, Kawahito Y, Mukai S, Yamada R, Kohno M, Inoue K, Hla T, Kondo M: Inhibition of human lung cancer cell growth by the peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)- agonists through induction of apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 270: 400-405, 2000.
- 3) Vane JR: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, 231: 232-237, 1971.
- 4) Avis IM, Jett M, Boule T, Vos MD, Moody T, Treston AM, Martinez A, Mulshine JL: Growth control of lung cancer by interruption of 5-Lipoxygenase-mediated growth factor signaling. *J Clin Invest*, 97: 806-813, 1996.
- 5) Vane JR, Mitchell JA, Appleton I, Tomlinson A, Bishop-Bailey D, Croxtall J, Willoughby DA: Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric-oxide synthase in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91: 2046-2050, 1994.
- 6) Yoshimura R, Sano H, Masuda C, Kawamura M, Tsubouchi Y, Chargui J, Yoshimura N, Hla T, Wada S: Expression of cyclooxygenase-2 in human prostate cancer. *Cancer*, 89: 589-596, 2000.
- 7) Goldman AP, Williams CS, Sheng H, Lamps LW, Williams VP, Pairet M, Morrow JD, DuBois RN: Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis*, 19: 2195-2199, 1998.
- 8) Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW Jr: Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med*, 325: 1593-1596, 1991.
- 9) Haanen C: Sulindac and its derivatives: a novel class of anticancer agents. *Curr Opin Investig Drugs*, 2: 677-683, 2001.
- 10) Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, Ringold GM, Kliewer SA: Peroxisome proliferator-activated receptors and are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem*, 272: 3406-3410, 1997.
- 11) Gately S, Li WW: Multiple roles of COX-2 in tumor angiogenesis: a target for antiangiogenic therapy. *Semin Oncol*, 2: 2-11, 2004.
- 12) Teh SH, Hill AK, Foley DA, MuDermott EW, O' Higgins NJ, Young LS: COX inhibitors modulate bFGF-induced cell survival in MCF-7 breast cancer cells. *J Cell Biochem*, 91: 796-807, 2004.
- 13) Kern MA, Schoneweiss MM, Sahi D, Bahlo M, Haugg AM, Kasper HU, Dienes HP, Kaferstein H, Breuhahn K, Schimacher P: Cyclooxygenase-2 inhibitors suppress the growth of human hepatocellular carcinoma implants in nude mice. *Carcinogenesis*, 25: 1193-1199, 2004.