

食餌性脂肪と残胃発癌 ラット残胃発癌モデルでの研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9197

食餌性脂肪と残胃発癌

—ラット残胃発癌モデルでの研究—

金沢大学医学部医学科外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

木 南 伸 一

脂肪摂取の多寡が、残胃癌の発生と進展に及ぼす影響を、実験的に検討した。体重 250-300g の Wistar 系雄性ラットを用い、腺胃の幽門側 2/3 を切除、Billroth II 法で再建した。術後、脂肪含有量 0.5% の特殊飼料を与える低脂肪食 (low fat diet, LF) 群 (n=27)、15% の高脂肪食 (high fat diet, HF) 群 (n=29) の 2 群に分けた。両群とも食餌摂取は自由とし、発癌剤を投与せずに、術後 50 週で犠牲死させた。残胃の腫瘍の発生は LF 群の 18.5% (5/27)、HF 群の 41.4% (12/29) に認められ、部位は吻合部であった。LF 群の腫瘍の最大径 (平均±標準偏差) は 4.8±2.5mm で、HF 群の 8.4±6.3mm に比べ短い傾向がみられた (p=0.065)。腫瘍は、組織学的に癌および腺腫であった。発癌率は、LF 群 14.8% (4/27)、HF 群 41.4% (12/29) で、LF 群が有意に低率であった (p<0.05)。組織型は粘液腺癌あるいは管状腺癌が認められた。深達度はすべて固有筋層以深で、LF 群では、深達は漿膜下層までに留まっているのに対し、HF 群では、漿膜露出が 3 例、他臓器浸潤が 2 例認められ、HF 群でより深部へと浸潤していた。腺腫の発生率は、LF 群では 14.8% で、HF 群 37.9% に比べ有意に低率であった (p<0.05)。粘膜下過形成性腺管 (gastritis cystica profunda) の発生率は、LF 群 74.1%、HF 群 93.1% で、両群間で有意に近い差を認めた (p=0.057)。糞便中の総胆汁酸濃度は、LF 群 2.45±1.49μmol/g、HF 群 3.70±2.31μmol/g (p<0.05)、また糞便中 1 日総胆汁酸量は、LF 群 11.2±6.2μmol/日、HF 群 19.0±16.4μmol/日 (p<0.05) で、LF 群が有意に低値であった。体重変化、残胃粘膜面の pH、血中の総コレステロール、中性脂肪、遊離コレステロール、リン脂質、および、総胆汁酸濃度は、LF 群と HF 群の間に有意差を認めなかった。以上より、脂肪摂取量の多寡は、残胃癌の発生率に影響することが示された。

Key words stomach neoplasms, dietary fat, gastric stump, duodenogastric reflux, bile acid

良性疾患術後の残胃に発生する癌のことを、一般に残胃癌 (gastric stump carcinoma) と呼ぶ。欧米の疫学調査によると、残胃癌発生の相対危険度は、切除を受けていない胃に比べて高いと結論され、残胃は前癌状態であると容認されている¹¹⁻⁹⁾。一方、胃癌の多い日本では、残胃癌はむしろ少ない⁶⁾⁷⁾。Tersmette ら⁸⁾は、残胃癌発生の相対危険度は、アメリカの 1.53 倍、ヨーロッパの 1.66 倍に対し、日本は 0.28 倍で、日本では欧米に比べ有意に残胃癌発生の危険が少ないと報告している。このことは、残胃癌の発生進展が、通常の胃癌と異なる可能性を示唆している。

一方、大腸癌や乳癌も、日本の死亡率、罹患率は、欧米に比べ低い。この原因として食生活習慣、特に脂肪摂取量の差異が挙げられている⁹⁾⁻¹⁴⁾。食習慣が欧米型の食事内容へと変化するとともに、わが国の大腸癌と乳癌の罹患率も次第に増加している事実は、これを反映している¹⁵⁾。

欧米と日本との残胃癌の発生頻度の差違も、大腸癌や乳癌と同様に、脂肪摂取量の差異が関与しているのかもしれない。

近年、国内で残胃の癌の発生頻度が次第に増加している。こ

の原因として、消化性潰瘍で胃切除を受けた人々が癌年齢に達してきたこと¹⁶⁾、早期胃癌が増加し治療成績も向上したため異時性多発癌が増加したこと¹⁷⁾、が挙げられているが、食生活の欧米化が残胃の発癌を助長していることも考えられる。

本研究では、食餌性の脂肪摂取量の差異が、残胃癌の発生と進展に及ぼす影響を及ぼすかを実験的に検討した。

材料および方法

I. 実験動物および飼育条件

体重 200g 前後の Wistar 系雄性ラット 130 匹を用いた。室温 22±3℃、湿度 55±5% に保ち、各ケージ 2~3 匹づつに分けて飼育した。飲料水は水道水を用いた。全実験中を通じ発癌剤は一切使用しなかった。

II. 実験方法

1. 術前飼育

術前には、脂肪含有量 5% の標準飼料 CRF-1 (日本 Charles River, 神奈川) を自由摂取させ飼育した。

2. 手術方法

平成 7 年 12 月 15 日受付, 平成 8 年 1 月 26 日受理

Abbreviations: Fch, free cholesterol; GCP, gastritis cystica profunda; HF, high fat diet; LF, low fat diet; MNNG, N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine; mp, muscularis propria; muc, mucinous adenocarcinoma; NEFA, non-esterified fatty acids; ODC, ornithine decarboxylase; PL, phospholipid; s-HF, sham-operated high

実験はラットの体重が 250-300g に増加した時点で行った。24時間の絶食ののち、ジエチルエーテル吸入麻酔下に上腹部正中切開にて開腹し、右胃大網動脈、右胃動脈、左胃動脈を結紮・切離し、腺胃の幽門側 2/3 を切除した。口側切除線は、小弯側を大きくとり、幽門腺領域を残さないようにした。消化管再建は Billroth II 法 (結腸前) にて行った。すなわち、十二指腸断端を閉鎖し、残胃の小弯線 1/2 を縫合し、大弯側 1/2 は、トライツ靭帯から 4cm の上部空腸と端側吻合した。消化管吻合には針付き 7-0 シルク糸を用い、全層の結節縫合を行った (図 1)。術後 24 時間は絶飲食とし、1 日目より水分、2 日目より食餌を与えた。

3. 実験群作成

特殊飼料として、成分をそれぞれ表 1 のように調整したオリエンタル酵母工業株式会社 (名古屋) 製の低脂肪食 (脂肪含有量 0.5%)、高脂肪食 (脂肪含有量 15%) を使用した。

胃切除後に低脂肪食を与える低脂肪食 (low fat diet, LF) 群 (n=50)、胃切除後に高脂肪食を与える高脂肪食 (high fat diet, HF) 群 (n=54)、単開腹後に低脂肪食を与える (sham-operated low fat diet, s-LF) 群 (n=14)、単開腹後に高脂肪食を与える (sham-operated high fat diet, s-HF) 群 (n=12) の 4 群を作成した。

4 群とも、飼料は自由摂取させ、10 週毎に体重を測定した。術後 50 週経過例を有効動物とした。

4. 標本採取

犠牲死させる 24 時間前より絶食とした。LF 群の 16 匹、HF 群の 19 匹は、床が金網となった代謝ケージに 1 匹づつ入れ、24 時間の便を採取した。

犠牲死は、エーテル深麻酔にて行った。呼吸停止後、直ちに開腹し、下大静脈から採血した。つづいて残胃を摘出し、大弯側で切開し、デジタル pH/ION メーター TP-100 (東興科学研究

所、東京) にて腺胃粘膜面の pH を測定した。次に、肝臓を肉眼的観察および手指にて触知し、腫瘍 (転移) の有無を検索した。大腸 (結腸) も同時に摘出した。

残胃は、粘膜面の腫瘍発生を肉眼的に観察した後、粘膜面上にしコルク板にピンで貼り付け、10%ホルマリン液で固定した。大腸は、長軸方向にそって腸間膜対側で切開し、腫瘍の発生を観察した。

Table 1. Composition of the low and the high fat diet

Component	Composition(%) of each component in	
	Low fat diet	High fat diet
Soybean oil	0.5	15.0
Milk casein (Vitamin free)	25.0	25.0
Dextrose	46.5	32.0
Mineral mixture	6.0	6.0
Vitamin mixture	2.0	2.0
α -Potato starch	10.0	10.0
β -Corn starch	10.0	10.0

Both the high fat diet and the low fat diet were purchased from Oriental Yeast Co. Ltd. (Nagoya).

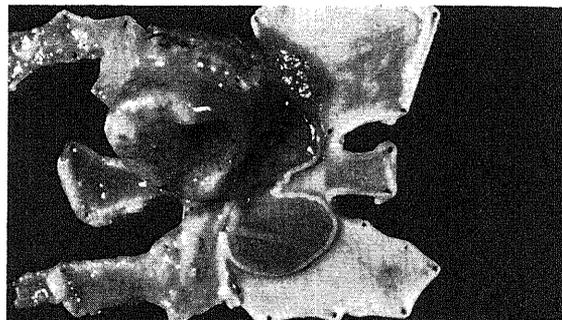


Fig. 2. Macroscopic findings of gastric stump carcinoma in a rat fed the high fat diet. A tumor was located at the gastroenteric anastomotic site.

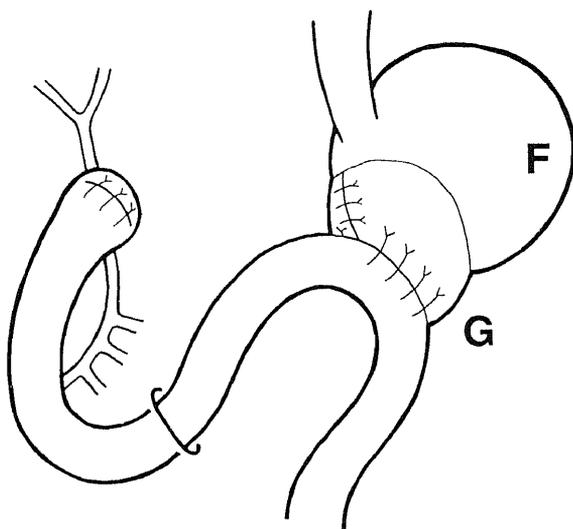


Fig. 1. Operative procedures. Distal partial gastrectomy and Billroth II reconstruction. G, remnant glandular stomach; F, forestomach.

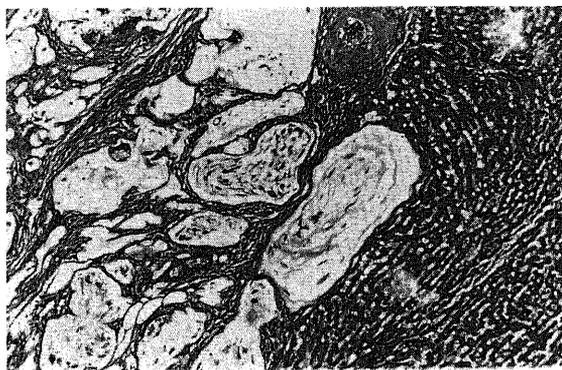


Fig. 3. Histological findings of the tumor shown in Fig. 2. Mucinous adenocarcinoma. Direct invasion into liver. HE, $\times 250$.

fat diet; s-LF, sham-operated low fat diet; se, serosa exposed; si, serosa infiltrating; ss, subserosa; TG, triglyceride; Tch, total cholesterol; tub, tubular adenocarcinoma

5. 残胃の病理組織検査法

24時間のホルマリン固定の後、残胃空腸吻合線と直角に交わるような方向で、全残胃を3mm間隔で切り出し、パラフィン包埋した。腫瘤のある場合は同方向での最大割面が得られるように切り出した。このブロックを5 μ mで薄切し、HE染色を行い、鏡検した。

6. 病理学的記載法

肉眼的に腫瘤形成を認め、細胞異型、構造異型を有し、粘膜下層以下に浸潤増殖する腺増生を癌と定義した。(図2, 3, 4) 癌の組織型および組織学的深達度の判定は、胃癌取扱い規約第12版¹⁸⁾に準じた。

背景粘膜の病変として、腺腫、粘膜下過形成性腺管 (gastritis cystica profunda, GCP), 拡張腺管, 偽幽門腺化生を、次のように定義した。腺腫は、粘膜下層に腺管の増生を認めるが、異型性が弱く、浸潤傾向に乏しいもの(図5), GCPは、粘膜下層に小嚢胞状の過形成性腺管を認めるもの(図6), 拡張腺管は、腺腔の拡張を示すもの(図7), 偽幽門腺化生は、体部腺に幽門腺様組織の出現を認めるもの(図8)とした。

7. 血液生化学的検討

血清分離後、総コレステロール (total cholesterol, Tch), トリグリセリド (triglyceride, TG), 遊離コレステロール (free cholesterol, Fch), リン脂質 (phospholipid, PL), 遊離脂肪酸 (non-esterified fatty acids, NEFA), 総胆汁酸の濃度を測定した。

8. 糞便中総胆汁酸量の測定

糞便中の総胆汁酸濃度は、石本¹⁹⁾の方法に準じて胆汁酸成分を糞便より抽出し、3 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (3 α -hydroxysteroid dehydrogenase) による酵素反応²⁰⁾で測定した。

抽出方法を以下に示す。集めた糞便は、分析時まで-20℃で凍結保存し、均一化した後、250mgを分析用の試料とした。エタノールと0.5N水酸化ナトリウム (NaOH) 液の8:2の混合液25mlを加え、遠沈管の中で60分間70℃の温浴抽出を行い、遠沈後、上清を採取した。抽出3回分の上清を集めて分液ロートに移し、中性ステロールを除去するため、石油エーテル

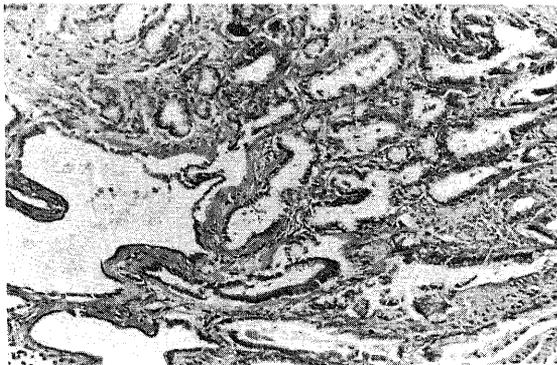


Fig. 4. Tubular adenocarcinoma in a rat fed the high fat diet. HE, $\times 500$.

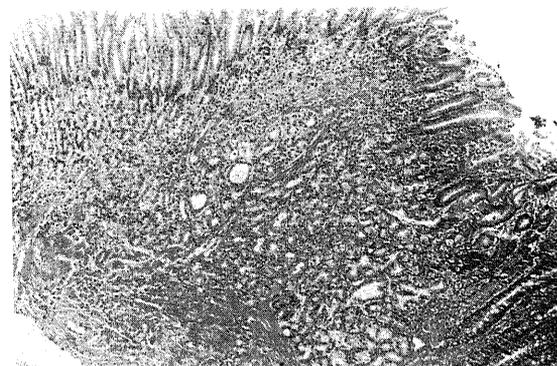


Fig. 5. Adenoma shown at the anastomotic site. Adenoma was consisted of glandular proliferation with low grade atypia. HE, $\times 250$.

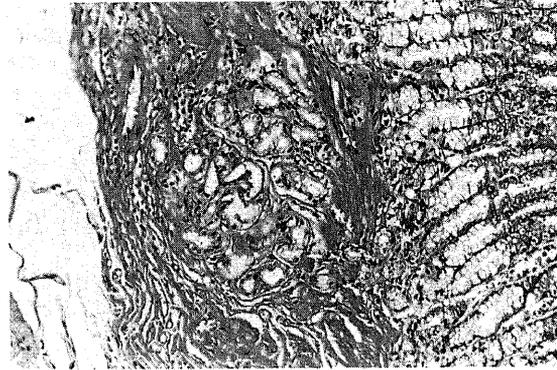


Fig. 6. Gastritis cystica profunda (GCP). GCP was consisted of the formation of cystic glands and their overgrowth into the submucosal layer without atypism. HE, $\times 500$.

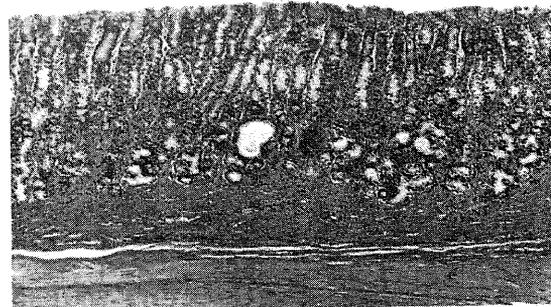


Fig. 7. Dilated gland. HE, $\times 250$.

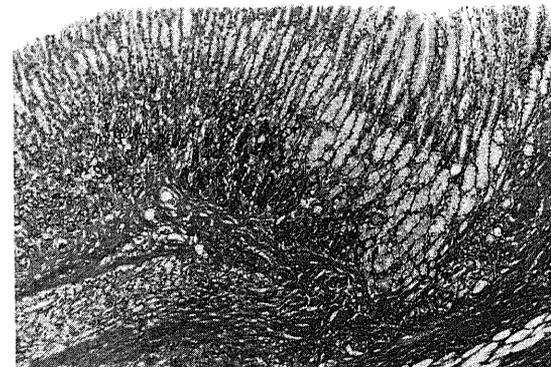


Fig. 8. Pseudopyloric glandular metaplasia. HE, $\times 250$.

35mlを加えてよく振盪し、上層(石油エーテル層)を除いた。同操作を2回行い、石油エーテル層を集め、さらにエタノールと0.5N NaOH液の6:4の混合液15mlを加えて再抽出し、エタノール層に加えた。集めたエタノール層を減圧乾固し、精製水10mlにて溶かし水溶媒としたものを、胆汁酸抽出液として、酵素反応に用いた。得られた総胆汁酸濃度と、集めた糞便の重量から、糞便中総胆汁酸量を算出した。

Ⅲ. 統計処理

各測定値は平均値と標準偏差($\bar{x} \pm SD$)で示した。腫瘍のサイズ、残胃粘膜面pH、およびNEFAの平均値の検定には、Wilcoxonの順位と検定を用いた。その他の項目の平均値の検定には、まずF検定を行い、等分散の場合はStudentのt検定を、異分散の場合はWelchのt検定を行った。病変の発生率はカイ2乗検定を、例数が5未満のものを含む場合はFisherの直接確率計算法を用いた。危険率5%未満を有意差ありと判定した。

成 績

Ⅰ. 有効動物数

有効動物は、LF群27匹、HF群29匹、s-LF群14匹、s-HF群12匹であった。

50週経過前に死亡したラットは、LF群23匹、HF群25匹であった。術後5日以内の死亡は15匹(LF群9匹、HF群6匹)、30週までは30匹(LF群13匹、HF群17匹)、それ以降には、LF群では32週に1匹、HF群では32週で1匹、41週に1匹、が

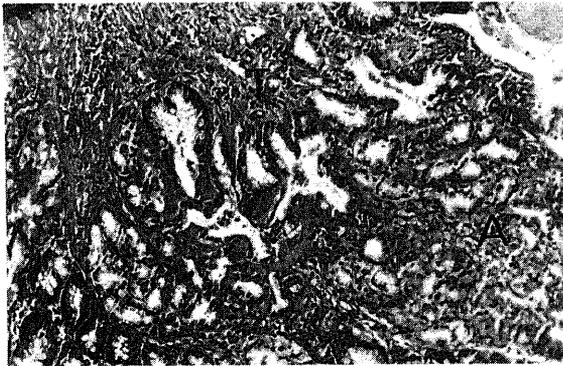


Fig. 9. Tubular adenocarcinoma with adenoma. T, tubular adenocarcinoma.; A, adenoma. HE, $\times 500$.

Table 2. Incidence and size of tumors in remnant glandular stomach

Group	No. of animals	No.(%) of animals bearing tumor	Diameter of tumor (mm, $\bar{x} \pm SD$)
LF	27	5(18.5)	4.8 \pm 2.5
HF	29	12(41.4)	8.4 \pm 6.3
s-LF	14	0(0)	
s-HF	12	0(0)	

LF, rats underwent gastrectomy and fed the low fat diet.; HF, rats underwent gastrectomy and fed the high fat diet.; s-LF, rats underwent laparotomy and fed the low fat diet.; s-HF, rats underwent laparotomy and fed the high fat diet. * p=0.065 compared by Wilcoxon rank sum test.

死亡した。主な死因は、術死、イレウス、誤飲で、残胃に腫瘍を認めたものはなかった。

Ⅱ. 肉眼的腫瘍発生(表2)

腫瘍は、LF群の18.5%、HF群の41.4%に発生し(p=0.117)、全て残胃空腸吻合部に認められた。(図2)

腫瘍の平均最大径は、LF群で4.8 \pm 2.5mm、HF群で8.4 \pm 6.3mmであった。LF群はHF群に比べ小さい傾向がみられた(p=0.065)。

肝転移、腹膜播種、リンパ節転移は認められなかった。大腸には腫瘍を認めなかった。

s-LF群、s-HF群の残胃には、腫瘍は認められなかった。

Ⅲ. 組織学的所見

1. 癌および腺腫の発生率と組織像

肉眼的腫瘍には、癌および腺腫の組織像が認められた。

癌は、LF群の腫瘍5個中4個、HF群の12個全てに認められた(表3)。したがって発癌率は、LF群が14.8%、HF群が41.4%で、LF群で有意に低率であった(p<0.05)。

腫瘍には腺腫も含まれ、LF群の腫瘍5個中4個、HF群の12個中11個の頻度でみられた。検索動物数に対する腺腫発生率は、LF群14.8%、HF群37.9%で、LF群で有意に低率であった(p<0.05)。腺腫の組織は癌と隣接し、時には周囲を取り巻くような配列を示し、癌が占める面積が小さい腫瘍では、腺腫の一部に癌が出現したような像も認められた(図9)。

癌は、粘液腺癌(mucinous adenocarcinoma, muc)、あるいは管状腺癌(tubular adenocarcinoma, tub)の像を呈した(図3, 4, 表4)。両組織型の発生頻度は両群間で差を認めなかった。深達度はすべて固有筋層(muscularis propria, mp)以深であった。LF群では、浸潤は漿膜下層(subserosa, ss)までに留まっているのに対し、HF群では、漿膜露出(serosa exposed, se)が3例、他臓器浸潤(serosa infiltrating, si)(肝臓へ直接浸潤、図3)が2例認められ、HF群でより深部へと深達していた。

Table 3. Histological findings of tumors of gastric stump

Group	No. of animals	No.(%) of tumors	No.(%) of carcinoma	No.(%) of adenoma
LF	27	5(18.5)	4(14.8)	4(14.8)
HF	29	12(41.4)	12(41.4)	11(37.9)
s-LF	14	0(0)	0(0)	0(0)
s-HF	12	0(0)	0(0)	0(0)

* p<0.05 compared by Fisher's exact probability test.

Table 4. Histological type and depth of invasion of gastric stump carcinomas

Group	No. of carcinoma	Histological type			Depth of invasion			
		tub	muc	muc/tub	mp	ss	se	si
LF	4	1	2	1	3	1	0	0
HF	12	5	5	2	6	1	3	2

The histological type and depth of invasion of carcinoma were determined according to the general rules for the gastric cancer study, the 12th edition, Tokyo!¹⁸⁾

Table 5. Histological findings of remnant glandular stomach

Group	No. of animals	No. (%) of			
		Microadenoma	GCP	Dilated gland	PPGM
LF	27	3(11.1)	20(74.1)	22(81.5)	21(77.8)
HF	29	11(37.9)	27(93.1)	25(86.2)	24(82.8)

Microadenoma is microscopic adenoma without macroscopic tumor.

PPGM, pseudopyloic glandular metaplasia.

* p<0.05 compared by Fisher's exact probability test.

§ p=0.057 compared by Fisher's exact probability test.

Table 6. Change of body weight after operation

Group	No. of animals	Body weight (g)					
		Before operation	Time (week) after operation				
			10	20	30	40	50
LF	27	277±29	390±40	441±45	464±56	495±58	494±72
HF	29	266±26	375±50	435±56	467±58	474±68	458±74
s-LF	14	269±17	398±14	465±28	505±27	528±33	540±48
s-HF	12	268±20	403±44	478±51	518±60	536±65	552±74

Table 7. pH of a mucosal surface of the remnant glandular stomach and the biochemical data of serum

Group	No. of animals	pH	Tch (mg/dl)	TG (mg/dl)	Fch (mg/dl)	PL (mg/dl)	NEFA (mEq/l)	Bile acids (nmol/ml)
LF	27	6.3±0.9	77±17	23±12	15±5	95±16	1.14±0.21	12.2±6.6
HF	29	5.9±1.2	84±21	22±14	15±5	99±24	0.99±0.17	12.5±8.9
s-LF	14	3.1±1.2	84±18	44±27	20±5	109±19	1.24±0.27	6.6±5.3
s-HF	12	2.8±0.8	94±22	40±18	22±8	120±25	1.26±0.26	9.4±7.0

* p<0.01 compared by Wilcoxon rank sum test.

2. 背景粘膜の組織学的検討 (表5)

肉眼的腫瘍以外に、組織学的に腺腫が認められたラットは、LF 群3匹 11.1%、HF 群11匹37.9%で、LF 群で有意に少なかった (p<0.05)。GCP (図6) は、LF 群の 74.1%、HF 群の 93.1%に認められ、LF 群に少ない傾向が認められた (p=0.057)。

拡張腺管 (図7) は、LF 群の 81.5%、HF 群の86.2%に、偽幽門腺化生 (図8) は、LF 群の 77.8%、HF 群の82.8%に認められた。これらの発生率は両群間で差がなかった。

IV. 体重変化 (表6)

LF 群と HF 群の間には、術前から40週迄は、体重に差を認めなかった。50週では、LF 群 494±72g、HF 群 458±74g で、HF 群が軽い傾向であったが有意差はなかった (p=0.08)。s-LF 群と s-HF 群の間では、術前から50週まで差を認めなかった。

V. 残胃粘膜面 pH および血液生化学的所見 (表7)

残胃粘膜面 pH および血清の Tch, TG, Fch, PL, 総胆汁酸濃度は、LF 群と HF 群の間に有意差を認めなかった。NEFA は、HF 群で LF 群に比べ有意に低値であった

Table 8. Daily fecal weight and fecal bile acid concentration

Group	Daily fecal weight (g)	Fecal bile acid concentration (μmol/g)	Daily fecal bile acid excretion (μmol)
LF	4.8±1.6	2.45±1.49	11.2±6.2
HF	4.9±2.4	3.70±2.31	19.0±16.4

* p<0.05 compared by Welch's t test.

(p<0.01).

一方、s-LF 群と s-HF 群の間には、残胃粘膜面 pH、血清の Tch, TG, Fch, PL, NEFA, 総胆汁酸濃度で有意差は認められなかった。

VI. 糞便中総胆汁酸量 (表8)

犠牲死前24時間の糞便重量は、両群間で差を認めなかった。糞便中の総胆汁酸濃度は、LF 群が 2.45±1.49μmol/g で、HF 群の 3.70±2.31μmol/g に比べ、有意に低値を示した (p<0.05)。

糞便中一日総胆汁酸量は、LF 群は $11.2 \pm 6.2 \mu\text{mol}/\text{日}$ であり、HF 群の $19.0 \pm 16.4 \mu\text{mol}/\text{日}$ より少なく、有意差を認めた ($p < 0.05$)。

考 察

本研究では、Wistar 系雄性ラットに幽門側胃切除を行い、Billroth II 法で再建し、発癌剤を投与せずに50週観察するモデルを使用し、脂肪摂取量の差異が残胃癌に及ぼす影響を観察した。その結果、発癌率は、LF 群 14.8%、HF 群 41.4% で、脂肪摂取量が少ないと有意に低率であった。また、低脂肪摂取群では、発生した腫瘍の最大径は小さく、腺腫、GCP といった背景病変の発生も有意に低率であった。このように、残胃癌の発生および進展は脂肪摂取量に影響されることが、実験的に明らかとなった。

これまでに当教室で行ってきた、発癌剤非投与、逆流によるラット残胃癌モデル^{21)~24)}での発癌率は、標準飼料摂取、50週の観察期間で、21~50%であった。これらの実験成績と比較するに、著者の結果は、低脂肪食は残胃癌の発癌を抑制すると解釈できる。

ラットに胃切除を行い、Billroth II 法で再建すると、発癌剤を投与しなくとも、残胃癌が発生する^{23)26)~31)}。また、非切除胃でも、十二指腸液を胃に逆流させる手術を行うと、胃癌ができる^{21)32)~34)}。これらの実験モデルから、残胃癌のメカニズムが検討されてきた。

残胃癌発癌機構の最も重要な因子は、十二指腸液の逆流である。十二指腸液の胃内逆流は、胃切除による胃酸の分泌低下とともに、残胃内 pH の上昇、細菌の増殖をひきおこす。細菌の中には硝酸還元能を持つものがあり、唾液や食物に含まれる硝酸塩を亜硝酸塩に変化させる。亜硝酸は、ニトロソ化合物生成を触媒する細菌によって、アミンやアミドと結合し、癌原性物質である N-ニトロソ化合物が生成され、癌が発生すると考えられている³⁵⁾³⁶⁾。萎縮性胃炎や無酸胃では、胃内での細菌増殖、N-ニトロソ化合物産生が認められる³⁷⁾³⁸⁾。N-ニトロソ化合物は DNA 損傷から発癌に関与する³⁹⁾。Domellof ら⁴⁰⁾は、残胃内に腸内細菌叢の増殖を確認した。Carboni ら⁴¹⁾は、非切除胃は無菌であったのに対し、切除胃には細菌の繁殖がみられ、しかも Billroth II 法再建残胃の方が、Billroth I 法に比べ、残胃内 pH、総細菌数、硝酸還元菌数、亜硝酸レベルが高かったと報告している。Schlag らが⁴²⁾、残胃と正常胃の胃内亜硝酸塩と N-ニトロソ化合物とを比較したところ、切除胃では亜硝酸塩が多く、N-ニトロソ化合物は Billroth II 法残胃内で有意に高値を示していた。これらの報告は、前述の仮説を強く裏付けている。当教室における実験でも、松本²⁴⁾は、ラットに十二指腸液胃内逆流手術を行うと、硝酸還元菌が増殖することを確認し、仲井ら⁴³⁾は、ラットに胃切開縫合、Finney 型幽門形成術、胃空腸吻合術を行うと、十二指腸液の逆流量が増えるにつれ硝酸還元菌の量が増加し、亜硝酸濃度も増加し、発癌率も増加すると報告している。

また、十二指腸液の残胃逆流は、発癌におけるイニシエーションのみならず、プロモーションの作用も有している^{44)~46)}。宮田⁴⁷⁾は、ラットを N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine, MNNG) でイニシエーションした後、十二指腸液胃内逆流手術を行い、術後30週で発癌を検討すると、単開腹に比べ、逆流群で発癌率が有意に高

く、小胃癌が多発することを観察している。

十二指腸液逆流は、残胃の細胞増殖動態にも影響する。ヒトの Billroth II 法再建後の残胃粘膜は、Billroth I 法に比べ、炎症細胞浸潤、腺窩上皮の過形成、固有胃腺の萎縮が強く⁴⁸⁾⁴⁹⁾、吻合部粘膜上皮に DNA 合成期細胞の増加⁵⁰⁾と、オルニチン脱炭酸酵素 (ornithine decarboxylase, ODC) 活性値の増加⁵¹⁾⁵²⁾が認められたと報告されている。十二指腸液逆流は、腺窩上皮の過形成⁵³⁾、細胞増殖帯の拡大と上方移動⁵⁴⁾⁵⁵⁾をひきおこす。十二指腸液逆流による胃粘膜の細胞増殖活性の亢進は、実験的にも確認されている^{56)57)~61)}。鎌田²³⁾は、ラットの Billroth II 法残胃粘膜を I 法と比べ、吻合口粘膜の細胞増殖帯の拡大、DNA 合成期の延長と細胞分裂周期の遅延を観察している。

以上のように、十二指腸液の残胃逆流は、発癌物質の生成、プロモーター作用、細胞増殖動態の変化を通して、残胃癌の発生と進展に重要な役割を果たしている⁶²⁾。

なぜ、脂肪摂取量の制限が、残胃癌を抑制したのであろうか。理由は、十二指腸液の組成の相違、なかでも胆汁酸の総量の差異に求めることができる。

両群間で、血中の胆汁酸濃度は差を認めなかったが、HF 群に比べ、糞便中の総胆汁酸濃度、糞便中 1 日総胆汁酸排泄量は、LF 群で有意に低値であった。高脂肪食は便中胆汁酸排泄量の増加をきたす⁶³⁾。胆汁酸は肝臓でコレステロールから合成され、腸肝循環にて、その99%が吸収され門脈から肝臓へ戻っているが、フィードバック機構が働き、糞便中に失われる分の胆汁酸が肝で合成されている⁶³⁾。よって、本実験で糞便中総胆汁酸量に差がみられた理由は、HF 群に比べ、LF 群では胆汁酸の合成が有意に少なかったことにある。

したがって、LF 群では、胆汁中に排泄され残胃へと逆流した胆汁酸の総量が、HF 群に比べ少なかった可能性が高い。

十二指腸液のプロモーター作用の機序として、その成分の中でも、胆汁、とりわけ胆汁酸の残胃癌に及ぼす促進作用が強調されている。数多くの実験結果が、胆汁酸は、大腸発癌のプロモーターと結論している^{64)~69)}。胆汁酸が胆管細胞癌発生を促進する報告もある⁷⁰⁾。また、培養細胞を用いた実験でも、胆汁酸はプロモーター作用を示す^{71)~74)}。残胃癌の発生進展に及ぼす胆汁酸の促進作用も、幾つかの報告がある。Kobori ら⁷⁵⁾、竹林⁷⁶⁾は、MNNG 投与ラットの胃発癌が胆汁酸投与で促進されるのを観察した。Kawahara ら⁷⁷⁾は、ラットを MNNG でイニシエーションした後、胃切除を行い、胆汁酸を含有する試料を与えると、癌の発生率が増加したと報告した。Makino ら⁷⁸⁾が、ラットに Billroth II 法胃切除を行い MNNG を投与するモデルで、高コレステロール食で胆汁酸分泌を促進させると、発癌率は増加した。Furihata ら⁷⁹⁾は、数種類の胆汁酸をラットに胃内投与すると、腫瘍は発生しないが、ODC 活性と DNA 合成が亢進することを観察した。胆汁酸がプロモーターとして働く機序としては、その界面活性作用による細胞膜透過性の変化⁸⁰⁾、DNA 合成促進⁷⁹⁾、細胞回転の亢進⁷⁹⁾、発癌物質の DNA への結合促進⁷⁴⁾⁸⁰⁾⁸¹⁾、などが挙げられている。また、胆汁酸自体には変異原性は認められないが、アミドとして直接もしくは細菌の触媒下に亜硝酸と反応し、発癌物質が産生される可能性がある⁸²⁾。N-ニトロソグリココロール酸と N-ニトロソタウロコロール酸には、ラットで癌原性を認めている⁸³⁾。このように、胆汁酸の発癌促進作用は数多く報告されている。

以上より、今回の著者の結果には、次のようなメカニズムが

推定される。すなわち、胆汁酸合成が低下した低脂肪食摂取ラットでは、残胃に逆流する十二指腸液内の胆汁酸量が減少するため、アマイド供給が減少し、プロモーター活性も抑制され、発癌率が低く抑えられたと考えられる。

一方、残胃発癌における胆汁酸の関与を重視する報告も見られる。Masonら³³⁽⁸⁴⁾は、ラットに胃切除を行い、胆汁と胆汁酸を分離して胃内に逆流させる手術を行ったところ、胆汁逆流群では発癌しなかったのに対し、胆汁と胆汁酸が逆流する群で発癌し、残胃発癌には胆汁以外の十二指腸液が重要である、とした。小島ら²⁹⁾も、ラットの胃切除後に胆汁胆汁酸の分離逆流手術を行い、胆汁を含む十二指腸液の逆流が重要としながらも、胆汁酸の関与を強調している。一方、藤村²²⁾は、ラット胃を切除せずに胆汁と胆汁酸が分離逆流するモデルを作製して検討したところ、胆汁逆流群に発癌が認められたのに対し、胆汁酸のみの逆流では発癌せず、胆汁酸の関与は少ないとした。胆汁・胆管合流異常における胆道発癌機序の検討では、胆汁酸が胆管内に逆流、混和、うっ滞し、胆汁酸の活性化と胆汁酸成分の変化(二次胆汁酸の増加)による胆道粘膜障害が発癌に繋がると考えられている⁸⁵⁾。しかし、胆汁酸に癌原性物質が含まれているとの報告はこれまで見られていない。

他にも、発癌率に差が生じた原因として、摂取カロリーの差異、脂肪酸やその代謝産物の細胞学的な関与の可能性もある。

高脂肪食による高カロリー投与は、腫瘍の発育進展に影響するとされている¹⁴⁽⁸⁶⁾⁽⁸⁷⁾。しかし、単開腹のみを行い、低脂肪食もしくは高脂肪食で飼育した s-LF 群と s-HF 群の間には、体重変化に差を認めなかったこと、血液生化学上、総コレステロール、中性脂肪、遊離コレステロール、リン脂質、遊離脂肪酸に差を認めなかったことより、本実験における脂肪含有量の差は、あまり栄養学的な影響を及ぼさなかったものと考えられる。LF 群と HF 群では、50週目の HF 群の体重は LF 群より少ない傾向にあり、遊離脂肪酸は HF 群が LF 群より有意に低値を示したが、これは、HF 群で41.4%の発癌を認め、また、腫瘍の大きさも HF 群が大きい傾向にあったことから、癌による直接の影響、もしくは腫瘍で惹起された通過障害の影響と推察される。

疫学的検討は、乳癌、結腸癌、膀胱癌、前立腺癌の発生と、脂肪摂取との強い関連を指摘している^{9)~13)}。また、動物実験では、高脂肪食摂取でこれらの癌の発生が促進される結果^{85(88)~85)}が得られた。高脂肪食が乳癌の発生を促進するメカニズムとしては、ホルモンバランスの変化⁹⁵⁾のほか、膜流動性の変化によるレセプター応答や細胞相互作用への影響⁹⁷⁾、プロスタグランジンや関連化合物の直接および間接的影響⁹⁸⁽⁹¹⁾⁽⁹⁸⁾、などが考えられている。また、高脂肪食による大腸癌の促進機序は、胆汁酸代謝への影響^{84)~85)}以外にも、乳癌と同様に、プロスタグランジンやエイコサノイドの関与⁹³⁽⁹⁹⁾⁽¹⁰⁰⁾も考えられている。脂肪が発癌に及ぼす影響には、脂肪の成分や、その代謝産物が、直接的、あるいは免疫等を介して間接的に、発癌プロモーションに働く、細胞単位でのメカニズムも指摘されている。この機序が残胃の癌の発生に対しどの程度関与するのかは、本実験からは不明であり、今後の検討を待たねばならない。

さて、本実験の残胃粘膜には、偽幽門腺化生、拡張腺管、GCP、腺腫の変化を認めた。Billroth II 法残胃に特徴的な組織変化として、嚢胞状拡張腺管の形成、すなわち、Littler ら¹⁰¹⁾の GCP が指摘されている⁴⁹⁽⁸⁰⁾。横山ら¹⁰²⁾は、GCP に、p53 蛋白の

核内異常蓄積を認め、さらに、GCP が粘膜の底部あるいは粘膜下層に存在しているにもかかわらず、PCNA 陽性細胞の出現を観察した。GCP と残胃癌との関係は詳しくは不明であるが、背景病変として重要である¹⁰³⁾。本実験では、拡張腺管、偽幽門腺化生の発生率は両群間に差を認めなかったが、腺腫と GCP の発生率は、LF 群では HF 群より有意に低率であった。

十二指腸液逆流は、残胃癌を引き起こすのみならず、食道に逆流すると、バレット食道や、食道癌を引き起こすことが、瀬川¹⁰⁴⁾、佐原¹⁰⁵⁾によって実験的に示された。この、逆流による食道発癌においても、胆汁酸の関与が重視されている。Mirvish ら¹⁰⁶⁾は、バレット食道の患者には、大腸ポリープ、大腸癌が高率に認められる¹⁰⁷⁾ことから、過剰な胆汁酸への暴露は、大腸癌、胃癌だけでなく、バレット食道や食道の腺癌の発生にも重要な役割を果たす、と述べている。Clark ら¹⁰⁸⁾は、十二指腸液を食道に逆流させ、発癌剤を投与するモデルで、高脂肪食が食道発癌を促進するのを観察している。これらの報告と、本実験の結果から、過剰な脂肪摂取に伴う過剰な胆汁酸は、大腸のみならず、残胃および下部食道の粘膜障害と発癌にも関与すること、脂肪摂取の制限は、大腸癌の抑制だけでなく、残胃癌、バレット食道、および下部食道の腺癌の抑制にもつながることが示唆されよう。

がんの発生には食物の影響が大きいと考えられる。Doll ら¹⁴⁾は、ヒトがんの35%に食餌習慣が関与するとしている。食事全体に占める脂肪分の割合は、日本人が26%なのに対し、アメリカ人は44%にも達する¹⁰⁹⁾。本実験の結果は、胃癌の多い日本で、欧米よりも残胃癌の発癌リスクが小さい、という疫学的知見⁹⁾に対する一つの説明になるものと考えられる。同時に、脂肪摂取の制限が、残胃癌のリスクを軽減させる、という知見の実験的な裏付けとなり、残胃癌予防の手掛かりの一つとなるだろう。

結 論

ラットの腺胃幽門側2/3を切除し、Billroth II 法で再建し、発癌剤を投与せずに50週間観察するモデルにおいて、低脂肪食(脂肪含有量 0.5%)を与える LF 群と、高脂肪食(脂肪 15%)を与える HF 群を作製し、脂肪摂取量の多寡が、残胃癌の発生と進展に及ぼす影響を、実験的に検討し、以下の結果が得られた。

1. 腫瘍は、LF 群の 18.5%、HF 群の41.4%に認められ($p=0.117$)、全て残胃空腸吻合部に発生した。腫瘍の最大径は、LF 群が $4.8 \pm 2.5\text{mm}$ で、HF 群の $8.4 \pm 6.3\text{mm}$ に比べ小さい傾向がみられた($p=0.065$)。

2. 発癌率は、LF 群 14.8%、HF 群41.4%で、LF 群で有意に低率となった($p<0.05$)。組織型は muc あるいは tub、深達度はすべて mp 以深で、LF 群では、浸潤は ss までに留まっているのに対し、HF 群では、se が3例、si が2例認められ、HF 群でより深部へと浸達していた。

3. 腺腫の発生率は、LF 群 14.8%、HF 群 37.9% で、LF 群で有意に少なかった($p<0.05$)。GCP は、LF 群の 74.1%、HF 群の93.1%に認められ、LF 群に少ない傾向が認められた($p=0.057$)。

4. 糞便中の総胆汁酸濃度は、LF 群が $2.45 \pm 1.49\mu\text{mol/g}$ で、HF 群の $3.70 \pm 2.31\mu\text{mol/g}$ に比べ、有意に低値を示した($p<0.05$)。糞便中一日総胆汁酸量は、LF 群は $11.2 \pm 6.2\mu\text{mol/}$

日で、HF 群の $19.0 \pm 16.4 \mu\text{mol}/\text{日}$ より少なく、有意差を認めた ($p < 0.05$)。

5. LF 群と HF 群の間には体重変化に有意差を認めなかった。残胃粘膜面の pH, 血清の Tch, TG, Fch, PL, および、総胆汁酸濃度は、LF 群と HF 群の間に有意差を認めなかった。

以上より、脂肪摂取の多寡が残胃発癌に影響することが実験的に示された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇意なる御指導、御校閲を賜った恩師宮崎逸夫教授に深甚なる謝意を捧げます。また、直接御指導を頂いた三輪晃一助教授に深謝いたします。さらに病理学的検討に御教示を頂いた滋賀医科大学第一病理学教室服部陸則教授に御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Stalsberg, H. & Taksdal, S.: Stomach cancer following gastric surgery for benign conditions. *Lancet*, ii, 1175-1177 (1971).
- 2) Giarelli, L., Melato, M., Stanta, G., Bucconi, S. & Manconi, R.: Gastric resection: a cause of high frequency of gastric carcinoma. *Cancer*, 52, 1113-1116 (1983).
- 3) Caygill, C. P., Hill, M. J., Kirkham, J. S. & Northfield, T. C.: Mortality from gastric cancer following gastric surgery for peptic ulcer. *Lancet*, i, 929-931 (1986).
- 4) Viste, A., Bjørnstad, E., Opheim, P., Skarstein, A., Thunold, J., Hartveit, F., Eide, G. E., Eide, T. J. & Sjøreide, O.: Risk of carcinoma following gastric operations for benign disease: A historical cohort study of 3470 patients. *Lancet*, ii, 502-504 (1986).
- 5) Offerhaus, G. J. A., Tersmette, A. C., Huibregtse K., van de Stadt, J., Tersmette, K. W. F., Stijnen, T. H., Hoedemaeker, P. J., Vanderbroucke, J. P. & Tytgat, G. N.: Mortality caused by stomach cancer after remote partial gastrectomy for benign conditions: 40 years of follow up of an Amsterdam cohort of 2633 postgastrectomy patients. *Gut*, 29, 1588-1590 (1988).
- 6) Tokudome, S., Kono, S., Ikeda, M., Kuratsune, M., Sano, C., Inokuchi, K., Kodama, Y., Ichimiya, H., Nakayama, F., Kaibara, N., Koga, S., Yamada, H., Ikejiri, T., Oka, N. & Tsurumaru, H.: A prospective study on primary gastric stump cancer following partial gastrectomy for benign gastroduodenal diseases. *Cancer Res.*, 44, 2208-2212 (1984).
- 7) Asano, A., Mizuno, S., Sasaki, R., Aoki, K., Yokoyama, H. & Yokoyama, Y.: The long-term prognosis of patients gastrectomized for benign gastroduodenal diseases. *Jpn. J. Cancer Res.*, 78, 337-348 (1987).
- 8) Tersmette, A. C., Giardiello, F. M., Offerhaus, G. J. A., Tersmette, K. W. F., Ohara, K., Vanderbroucke, J. P. & Tytgat, N. J.: Geographical variance in the risk of gastric stump cancer: No increased risk in Japan? *Jpn. J. Cancer Res.*, 82, 266-272 (1991).
- 9) Reddy, B. S., Cohen, L. A., McCoy, G. D., Hill, H., Weisburger, J. H. & Wynder, E. L.: Nutrition and its relationship to cancer. *In* G. S. Klein & S. Weinhouse (eds.), *Advance in Cancer Research*, vol. 32, 1st ed., p238-345, Raven Press, New York, 1980.
- 10) Carroll, K. K., Braden, L. M., Bell, J. A. & Kalamegham, R.: Fat and cancer. *Cancer*, 58, 1818-1825 (1986).
- 11) Correa, P.: Epidemiological correlations between diet and cancer frequency. *Cancer Res.*, 41, 3685-3690 (1981).
- 12) Kolonel, L. N., Nomura, A. M. Y., Hinds, M. W., Hirohata, T., Hankin, J. H. & Lee, J.: Role of diet in cancer incidence in Hawaii. *Cancer Res.* 43 (Suppl.), 2397s-2402s (1983).
- 13) Adlercreutz, H.: Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 50 (Suppl. 201), 3-23 (1990).
- 14) Doll, R. & Peto, R.: The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.*, 66, 1191-1308 (1981).
- 15) Kato, I., Tominaga, S. & Kuroishi, T.: Relationship between westernization of dietary habits and mortality from breast and ovarian cancer in Japan. *Jpn. J. Cancer Res.*, 78, 349-357 (1987).
- 16) 三輪晃一, 鎌田 徹, 長谷川啓, 藤村 隆, 瀬川正孝, 松本 尚, 宮田龍和, 小坂健夫, 米村 豊, 宮崎逸夫, 服部陸則: 胃手術と発癌リスク. *消化器外科*, 13, 1505-1512 (1990).
- 17) 平塚正弘, 古河 洋, 岩永 剛, 中森正二, 樹谷誠三, 大東弘明, 龜山雅男, 佐々木洋, 甲 利幸, 石川 治, 小山博記, 今岡真義: 胃癌術後の残胃新生癌の特徴と初回手術の注意. *消化器外科*, 16, 1291-1295 (1993).
- 18) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 改訂第12版, 62-89頁, 金原出版, 東京, 1993.
- 19) 石本喜和男: 高速液体クロマトグラフィーによる糞便中胆汁酸の分画定量法について. *和歌山医学*, 37, 195-202 (1986).
- 20) 眞重文子, 山中 学: 血清胆汁酸の直接比色定量法. *臨床化学*, 8, 191-197 (1979).
- 21) 長谷川啓: 十二指腸液逆流によるラットの胃癌発生. *日消誌*, 88, 1517-1524 (1991).
- 22) 藤村 隆: 十二指腸液胃逆流によるラット胃癌-胆汁, 膵液の分離逆流モデルによる検討一. *日外会誌*, 92, 933-939 (1991).
- 23) 鎌田 徹: 残胃の発癌に関する実験的検討-Billroth I 法と Billroth II 法吻合の比較一. *日外会誌*, 94, 104-113 (1993).
- 24) 松本 尚: 逆流によるラット胃癌発生に関する研究. *日外会誌*, 95, 368-375, (1994).
- 25) Langhans, P., Hegar, R. A., Hohenstein, J., Schlake, W. & Bunte, H.: Operation-sequel carcinoma of the stomach. Experimental studies of surgical techniques with or without resection. *World J. Surg.*, 5, 595-605 (1981).
- 26) Kondo, K., Suzuki, H. & Nagayo, T.: The influence of gastro-jejunal anastomosis on gastric carcinogenesis in rats. *Gann*, 75, 362-369 (1984).
- 27) Theuring, F., Dittrich, S. & Wolter, F. H.: On the varying degrees of carcinogenicity of modified gastroentero-

- anastomoses. *Exp. Pathol.*, 27, 179-184 (1985).
- 28) **Mason, R. C.**: Duodenogastric reflux in rat gastric carcinoma. *Br. J. Surg.*, 73, 801-803 (1986).
- 29) 小島 宏, 近藤 建, 高木 弘: 残胃癌発生に関する実験的研究. *日外会誌*, 91, 818-826 (1990).
- 30) 尾形眞光, 寺西 寧, 寺島信也, 渡辺 智, 井上 仁, 元木良一: 残胃吻合部粘膜の十二指腸液逆流による経時的変化に関する実験的研究. *日外会誌*, 96, 286-293 (1995).
- 31) **Dittrich, S.**: Pathogenesis of carcinoma in operated stomach - An animal model. *Sb. Ved. Pr. Lek. Fak. Karlovy Univerzity Hradec. Kralove*, 35, 149-161 (1992).
- 32) **Langhans, P., Heger, R. A. & Stegemann, B.**: The cancer risk in the stomach subjected to nonresecting procedures: An experimental long-term study. *Scand. J. Gastroenterol.*, 19 (Suppl. 92), 138-141 (1984).
- 33) **Mason, R. & Filipe, I.**: The aetiology of gastric stump carcinoma in the rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, 25, 961-965 (1990).
- 34) **Holstein, C., Willen, R. & Eriksson, S.**: Gastric stump carcinomas in rats - A reliable gastric cancer model? *in vivo*, 4, 65-70 (1990).
- 35) **Correa, P.**: Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process - First American cancer society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res.*, 52, 6735-6740 (1992).
- 36) **Miwa, K., Hattori, T. & Miyazaki, I.**: Duodenogastric reflux and foregut carcinogenesis. *Cancer*, 75, 1426-1432 (1995).
- 37) **Ruddell, W. S., Bone, E. S., Hill, M. J., Blendis, L. M. & Walters, C. L.**: Gastric-juice nitrite: A risk factor for cancer in the hypochlorhydric stomach? *Lancet*, ii, 1037-1039 (1976).
- 38) **Schlag, P., Böckler, R. & Peter, M.**: Nitrite and nitrosamines in gastric juice: Risk factors for gastric cancer? *Scand. J. Gastroenterol.*, 17, 145-150 (1982).
- 39) **Bartsch, H., Ohshima, H., Pignatelli, B. & Calmels, S.**: Endogenously formed N-nitroso compounds and nitrosating agents in human cancer etiology. *Pharmacogenetics*, 2, 272-277 (1992).
- 40) **Domellöf, L., Reddy, B. S. & Weisburger, J. H.**: Microflora and deconjugation of bile acids in alkaline reflux after partial gastrectomy. *Am. J. Surg.*, 140, 291-295 (1980).
- 41) **Carboni, M., Guandagni, S., Pistoia, M. A., Amicucci, G., Tuscano, D., Negro, P., Smith, P. L. R. & Walters, C. L.**: The microflora of the gastric juice after Billroth I and Billroth II partial gastrectomy. *Scand. J. Gastroenterol.*, 21, 461-470 (1986).
- 42) **Schlag, P., Ulrich, H., Merkle, P., Böckler, R., Peter, M. & Herfarth, C.**: Are nitrite and N-nitroso compounds in gastric juice risk factors for carcinoma in the operated stomach? *Lancet*, i, 727-729 (1980).
- 43) 仲井培雄, 三輪晃一, 木南伸一, 佐原博之, 松本 尚, 瀬川正孝, 鎌田 徹, 長谷川啓, 藤村 隆, 宮田龍和, 谷卓, 八木雅夫, 宮崎逸夫, 中村信一, 津田充宥, 服部隆則: 胃手術後の十二指腸液逆流と前腸(食道・胃)発癌. *消化器癌の発生と進展*, 7, 89-91 (1995).
- 44) **Nishidoi, H., Koga, S. & Kaibara, N.**: Possible role of duodenogastric reflux on the development of remnant gastric carcinoma induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 72, 1431-1435 (1984).
- 45) 左野千秋, 神代龍之介, 井口 潔, 佐々木攻: 胃切除術式の残胃癌発生プロモーションに及ぼす影響に関する実験的研究. *日消外会誌*, 17, 2130-2136 (1984).
- 46) 三輪晃一, 宮田龍和, 宮崎逸夫, 服部隆則: 手術を受けた胃の発癌リスク. *日消外会誌*, 21, 1191-1194 (1988).
- 47) 宮田龍和: 十二指腸液胃逆流の胃発癌促進作用. *日消外会誌*, 21, 1357-1362 (1988).
- 48) 近藤 建, 菊池 学, 横山 功, 横山泰久, 長与健夫: 残胃吻合部粘膜の生検組織所見からみた残胃癌の発生. *癌の臨床*, 33, 651-660 (1987).
- 49) 森本俊雄: 十二指腸潰瘍に対する胃切除術後長期経過例における残胃の生理学的ならびに組織学的研究. *日消外会誌*, 21, 2703-2711 (1988).
- 50) 曾和融生, 藤本泰久, 鄭 容錫, 沈 敬補, 芳野裕明, 吉川和彦, 西脇英樹, 梅山 馨: 内視鏡的生検標本所見からみた残胃粘膜の検討 - とくに吻合部粘膜について -. *日臨外医会誌*, 47, 425-431 (1986).
- 51) **Sowa, M., Nakanishi, K., Chung, Y., Kato, Y., Kubo, T., Fujimoto, Y., Nishiwaki, H., Yoshikawa, K., Umeyama, K., Kobayashi, K. & Otani, S.**: Ornithine decarboxylase activity of the mucosa of the gastric remnant using endoscopic biopsy specimen, comparison between B-I and B-II. *Dig. Endosc.*, 3, 201-205 (1991).
- 52) **Jaszewski, R., Katta, S., Tureaud, J., Zaki, N. S. & Majumdar, A. P. N.**: Changes in gastric mucosal ornithine decarboxylase and tyrosine phosphorylation of proteins in postgastrectomy patients. *Scand. J. Gastroenterol.*, 28, 609-612 (1993).
- 53) **Sobala, G. M., O'Connor, H. J., Dewar, E. P., King, R. F. G., Axon, A. T. R. & Dixon, N. F.**: Bile reflux and intestinal metaplasia in gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.*, 46, 235-240 (1993).
- 54) **Offerhaus, G. J. A., van de Stadt, J., Samson, G. & Tytgat, G. N. J.**: Cell proliferation kinetics in the gastric remnant. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 21, 73-79 (1985).
- 55) **Bechi, P., Balzi, M., Becciolini, A., Amorosi, A., Scubla, E., Giache, V., Mazzanti, R., Tonelli, P. & Cortesini, C.**: Gastric cell proliferation kinetics and bile reflux after partial gastrectomy. *Am. J. Gastroenterol.*, 86, 1424-1432 (1991).
- 56) **Langhans, P., Bues, M., Heger, R. A., Hohenstein, J. & Korfsmeier, K. H.**: Cell-kinetic investigation in the operated rat stomach to show the influence of duodenogastric reflux: An experimental long-term study. *Scand. J. Gastroenterol.*, 19 (Suppl. 92), 87-90 (1984).
- 57) **Taylor, P. R., Mason, R. C., Filipe, M. I., Vaja, S., Hanley, D. C., Murphy, G. M., Dowling, R. H. & McColl, I.**: Gastric carcinogenesis in the rat induced by duodeno-

- stric reflux without carcinogens: morphology, mucin histochemistry, polyamine metabolism, and labelling index. *Gut*, **32**, 1447-1454 (1991).
- 58) Imai, T., Kobayashi, S., Aparecida, M., Rodrigues, M., de Camargo, J. L. V., Ogawa, K., Iwata, H. & Tatematsu, M.: Reduction of cell proliferative activities of gastric stump adenomatous hyperplasias after bile reflux diversion in rats. *Carcinogenesis*, **14**, 1765-1769 (1993).
- 59) 小深田盛一, 掛川暉夫: 十二指腸液逆流による胃粘膜の細胞動態および形態学的変化に関する実験的検討. *日消外会誌*, **17**, 675 (1984).
- 60) 米川正夫, 星野和義, 木村 修, 貝原信明: 胃切除後の残胃粘膜の細胞回転に及ぼす胆汁逆流の影響に関する実験的研究. *消化器癌の発生と進展*, **3**, 83-86 (1991).
- 61) 岩井壽生: 十二指腸液胃内逆流による胃粘膜の組織学的変化, BrdU 標識率, ならびに DNA メチル化に関する実験的研究. *日外会誌*, **95**, 234-241 (1994).
- 62) Reddy, B. S.: Role of bile metabolites in colon carcinogenesis. *Cancer*, **36**, 2401-2406 (1975).
- 63) 牧野 勲, 秋山建児, 中村公英: 胆汁酸の合成と代謝. *肝胆膵*, **23**, 1095-1104 (1991).
- 64) Reddy, B. S., Weisburger, J. H. & Wynder, E. L.: Effects of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man. *J. Nutr.*, **105**, 878-884 (1975).
- 65) Narisawa, T., Reddy, B. S. & Weisburger, J. H.: Effect of bile acids and dietary fat on large bowel carcinogenesis in animal models. *Gastroenterol. Jpn.*, **13**, 206-212 (1978).
- 66) 片山外一: 大腸癌発生増殖に及ぼす胆汁酸の影響に関する実験的研究. *十全医会誌*, **91**, 452-472 (1982).
- 67) Reddy, B. S. & Watanabe, K.: Effect of cholesterol metabolites and promoting effect of lithocholic acid in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F344 rats. *Cancer Res.*, **39**, 1521-1524 (1979).
- 68) Glauert, H. P. & Bennink, M.: Influence of diet or intrarectal bile acid injections on colon epithelial cell proliferation in rats previously injected with 1, 2-dimethylhydrazine. *J. Nutr.*, **113**, 475-482 (1983).
- 69) Takano, S., Matsushima, M., Ertürk, E. & Bryan, G. T.: Early induction of rat colonic epithelial ornithine and S-adenosyl-L-methionine decarboxylase activities by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine or bile salts. *Cancer Res.*, **41**, 624-628 (1981).
- 70) Kinami, Y., Ashida, Y., Gotoda, H., Seto, K., Kojima, Y. & Takashima, S.: Promoting effects of bile acid load on the occurrence of cholangiocarcinoma induced by diisopropanolnitrosamine in hamsters. *Oncology*, **50**, 46-51 (1993).
- 71) Kaibara, N., Yurugi, E. & Koga, S.: Promoting effect of bile acids on the chemical transformation of C3H/10T1/2 fibroblasts in vitro. *Cancer Res.*, **44**, 5482-5485 (1984).
- 72) Kawasumi, H., Kaibara, N. & Koga, S.: Cocarcinogenic activity of bile acids in the chemical transformation of C3H/10T1/2 fibroblasts in vitro. *Oncology*, **45**, 192-196 (1988).
- 73) Autrup, H., Harris, C. C., Trump, B. F. & Jeffrey, A. M.: Metabolism of benzo (a) pyrene and identification of the major benzo (a) pyrene-DNA adducts in cultured human colon. *Cancer Res.*, **38**, 3689-3696 (1978).
- 74) Jeannin, J. F., Chessebeuf, M., Martin, M. S., Lagneau, A. & Martin, F.: Proliferative effect of lithocholic acid on rat liver cell in culture. *Biomedicine*, **31**, 207-209 (1979).
- 75) Kobori, O., Watanabe, J., Shimizu, T., Shoji, M. & Morioka, Y.: Enhancing effect of sodium taurocholate on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced stomach tumorigenesis in rats. *Gann*, **75**, 651-654 (1984).
- 76) 竹林正孝: 胆汁酸の胃癌発生促進作用に関する実験的研究. *日外会誌*, **90**, 49-58 (1989).
- 77) Kuwahara, A., Saito, Y. & Kobayashi, M.: Bile acids promote carcinogenesis in the remnant stomach of rats. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **115**, 423-428 (1989).
- 78) Makino, M., Kaibara, N. & Koga, S.: Enhanced induction by high-cholesterol diet of remnant gastric carcinogenesis by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **81**, 130-135 (1989).
- 79) Furihata, C., Takezawa, R., Matsushima, T. & Tatematsu, M.: Potential tumor-promoting activity of bile acids in rat glandular stomach. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **78**, 32-39 (1987).
- 80) Cohen, A., Geller, S. A., Horowitz, I., Toth, L. S. & Werther, J. L.: Experimental models for gastric leiomyosarcoma: The effects of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in combination with stress, aspirin, or sodium taurocholate. *Cancer*, **53**, 1088-1092 (1984).
- 81) Hashimoto, K., Kakegawa, T., Takeda, J., Hiraki, Y., Koufujii, K., Tanaka, T. & Yano, S.: The effect of bile juice reflux on the development of remnant stomach carcinoma. *Kurume Med. J.*, **38**, 5-8 (1991).
- 82) Hill, M. J.: The role of colon anaerobes in the metabolism of bile acids and steroids, and its relation to colon cancer. *Cancer*, **36**, 2387-2400 (1975).
- 83) Busby Jr, W. F., Shuker, D. G. E., Charnley, G., Newberne, P. M., Tannenbaum, S. R. & Wogan, G. N.: Carcinogenicity in rats of the nitrosated bile acid conjugates N-nitrosoglycocholic acid and N-nitrosotaurocholic acid. *Cancer Res.*, **45**, 1367-1371 (1985).
- 84) Mason, R. C., Taylor, P. R., Filipe, M. I. & McColl, I.: Pancreaticoduodenal secretions and the genesis of gastric stump carcinoma in the rat. *Gut*, **29**, 830-834 (1988).
- 85) 杉上勝美: 膵・胆管合流異常例および同実験モデルにおける胆汁の生化学的検討—胆道発癌機序に関する考察—. *藤田学園医会誌*, **8** (臨増), 93-120 (1989).
- 86) Howe, G. R., Hirohata, T., Hislop, T. G., Iscovich, J. M., Yuan, J. M., Katsouyanni, K., Lubin, F., Marubini, E., Modan, B., Rohan, T., Toniolo, P. & Shunzhang,

- Y.: Dietary factors and risk of breast cancer: combined analysis of 12 case-control studies. *J. Natl. Cancer Inst.*, **82**, 561-569 (1990).
- 87) Graham, S.: Hypotheses regarding caloric intake in cancer development. *Cancer*, **58**, 1814-1817 (1986).
- 88) Gammal, E. B., Carroll, K. K. & Plunkett, E. R.: Effects of dietary fat on mammary carcinogenesis by 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene in rats. *Cancer Res.*, **27**, 1737-1742 (1967).
- 89) Chan, P. C. & Cohen, L. A.: Dietary fat and growth promotion of rat mammary tumors. *Cancer Res.*, **35**, 3384-3386 (1975).
- 90) 谷屋隆雄: 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) 誘発ラット乳癌の発生, 増殖, 細胞動態およびホルモンレセプターに及ぼす高脂肪食およびプロスタグランジン合成酵素阻害剤インドメタシンの影響. *十全医会誌*, **100**, 411-423 (1991).
- 91) Kitagawa, H. & Noguchi, M.: Comparative effects of piroxicam and esculetin on incidence, proliferation, and cell kinetics of mammary carcinomas induced by 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene in rats on high- and low-fat diets. *Oncology*, **51**, 401-410 (1994).
- 92) Reddy, B. S., Weisburger, J. H. & Wynder, E. L.: Effects of dietary fat level and dimethylhydrazine on fecal acid and neutral sterol excretion and colon carcinogenesis in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **52**, 507-511 (1974).
- 93) Reddy, B. S. & Maeura, Y.: Tumor promotion by dietary fat in azoxymethane-induced colon carcinogenesis in female F344 rats: Influence of amount and source of dietary fat. *J. Natl. Cancer Inst.*, **72**, 745-750 (1984).
- 94) Rao, K. N., Kottapally, S., Eskander, E. D., Shinozuka, H., Dessi, S. & Pani, P.: Acinar cell carcinoma of rat pancreas: Regulation of cholesterol esterification. *Br. J. Cancer*, **54**, 305-310 (1986).
- 95) 近藤靖司, 本間之夫: ラット前立腺発癌における二世代にわたる高脂肪食の影響. *病態生理*, **13**, 166-167 (1994).
- 96) Chan, P., Head, J. F., Cohen, L. A. & Wynder, E. L.: Influence of dietary fat on the induction of mammary tumors by N-nitrosomethylurea: Associated hormone changes and differences between Sprague-Dawley and F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **59**, 1279-1283 (1977).
- 97) Carroll, K. K., Hopkins, G. J., Kennedy, T. G. & Davidson, M. B.: Essential fatty acids in relation to mammary carcinogenesis. *Progr. Lipid Res.*, **20**, 685-690 (1981).
- 98) Carter, C. A., Milholland, R. J., Shea, W. & Ip, M. M.: Effect of the prostaglandin synthetase inhibitor indomethacin on 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene-induced mammary tumorigenesis in rats fed different levels of fat. *Cancer Res.*, **43**, 3559-3562 (1983).
- 99) 成沢富雄, 高橋正弘, 丹波 誠, 日下尚志, 山崎好日児, 西沢幸雄, 小沢一敏, 小番美恵子, 平野二郎, 磯田好弘: 魚油 ω -3 型多価不飽和脂肪酸のラット大腸発癌に及ぼす影響. *医学のあゆみ*, **145**, 911-912 (1988).
- 100) Reddy, B. S., Burill, C. & Rigotty, J.: Effect of diets high in ω -3 and ω -6 fatty acids on initiation and postinitiation stages of colon carcinogenesis. *Cancer Res.*, **51**, 487-491 (1991).
- 101) Littler, E. R. & Gleibermann, E.: Gastritis cystica polyposa (Gastric mucosal prolapse at gastroenterostomy site, with cystic and infiltrative epithelial hyperplasia). *Cancer*, **29**, 205-209 (1972).
- 102) 横山慶一, 服部隆則: 残胃癌の特性とその発生機序について. *日消誌*, **92**, 761-768 (1995).
- 103) 岩下明德, 黒岩重和, 遠城寺宗知, 山田寛保, 朔 元則: Stomal polypoid hypertrophic gastritis (SPHG) (gastritis cystica polyposa; GCP) に発生した I 型早期胃癌の 1 例. *胃と腸*, **17**, 1333-1339 (1982).
- 104) 瀬川正孝: 胃十二指腸液逆流によるラットの食道発癌実験. *日消外会誌*, **26**, 971-978 (1993).
- 105) 佐原博之: 逆流による食道発癌の実験的研究—胃液と十二指腸液の分離逆流. *日消外会誌*, **28**, 1630-1640 (1995).
- 106) Mirvish, S. S., Huang, Q., Chen, S. C., Birt, D. F., Clark, G. W. B., Hinder, R. A., Smyrk, T. C. & DeMeester, T. R.: Metabolism of carcinogenic nitrosamines in the rat and human esophagus and induction of esophageal adenocarcinoma in rats. *Endoscopy*, **25** (Suppl.), 627-631 (1993).
- 107) Robertson, D. A. F., Ayres, R. C. S. & Smith, C. L.: Screening for colonic cancer in patients with Barrett's oesophagus. *Brit. Med. J.*, **298**, 650 (1989).
- 108) Clark, G. W. B., Smyrk, T. C., Mirvish, S. S., Anselmino, M., Yamashita, Y., Hinder, R. A., DeMeester, T. R. & Birt, D. F.: Effect of gastroduodenal juice and dietary fat on the development of Barrett's esophagus and esophageal neoplasia: An experimental rat model. *Ann. Surg. Oncol.*, **1**, 252-261 (1994).
- 109) 磯田好弘, 平野二郎: 癌と脂質. *衛生化学*, **34**, 295-302 (1988).

The Effect of Dietary Fat on Gastric Stump Carcinogenesis in Rats Shinichi Kinami, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **105**, 203—214 (1996)

Key words stomach neoplasms, dietary fat, gastric stump, duodenogastric reflux, bile acid

Abstract

This study was designed to investigate whether gastric stump carcinogenesis would be influenced by the intake of dietary fat. Male Wistar rats weighing 250-300 g were given a distal partial gastrectomy (2/3 of the glandular stomach) and Billroth II reconstruction, after which they put on two different diets: one group on a low fat (0.5%) diet, LF group (n=27), the other on a high fat (15%) diet, HF group (n=29). Rats were fed *ad libitum* and drank tap water that was not exposed to carcinogens. They were sacrificed 50 weeks post-operatively. The incidence of tumor of the gastric stump was 18.5% (5/27) in the LF group and 41.4% (12/29) in the HF group (p=0.117). All tumors were located at the gastroenteric anastomotic site, but the mean diameter of tumors in the LF group (4.8±2.5 mm) was smaller than those in the HF group (8.4±6.3 mm, p=0.065). Histological examination revealed these tumors to be adenocarcinomas and/or adenomas. Four of the animals (14.8%) in the LF group and 12 (41.4%) in the HF group developed carcinomas so that the incidence in the LF group was significantly lower than in the HF group (p<0.05). The histological types of the carcinomas were identified as mucinous adenocarcinomas or tubular adenocarcinomas. The carcinomas had all invaded the proper muscle layer and sometimes reached the subserosal layer in the LF group, while three had invaded the exposed serosa and two the liver in the HF group. The incidence of adenoma (LF, 14.8%; HF, 37.9%; p<0.05) and that of gastritis cystica profunda (LF, 74.1%; HF, 93.1%; p=0.057) was also lower in the LF group than in the HF group. The value of fecal bile acid concentration (LF, 2.45±1.49 μmol/g; HF, 3.70±2.31 μmol/g; p<0.05) and the daily fecal bile acid excretion (LF, 11.2±6.2 μmol/g; HF, 19.0±16.4 μmol/g; p<0.05) were significantly lower in the LF group than in the HF group. There was no difference in changes in body weight or in pH of the mucosal surface of the gastric stump between two groups, nor in the values of total cholesterol, triglyceride, free cholesterol, phospholipid, and serum bile acids. These findings demonstrate that the quantity of dietary fat intake affects the incidence of gastric stump carcinoma.