

【総説】

食道腺癌と発癌予防
—ラット十二指腸食道逆流モデルから—

Esophageal adenocarcinogenesis and prevention of carcinogenesis using rat duodeno-esophageal reflux model

金沢大学大学院医学系研究科がん局所制御学
(外科学第二)

藤 村 隆

はじめに

以前から欧米では、特に白人男性を中心に、食道腺癌が急激に増加していることが指摘されていた^{1,2)}。一方我が国では、これまで食道腺癌は稀なものとしてきたが、近年の食生活の欧米化、肥満化、食道裂孔ヘルニアなどが原因と考えられている逆流性食道炎に伴い、バレット食道 (Barrett's esophagus, BE) の頻度が徐々に上昇しつつあり、将来は腺癌も増えることが危惧されている。胃食道逆流症 (gastroesophageal reflux disease, GERD) から食道腺癌までの過程は、まず炎症により上皮の過形成が起こり、これが持続することにより円柱上皮化生、いわゆるバレット上皮 (Barrett's epithelium) が発生、その後、異形成を経て腺癌に至ると考えられており、inflammation - metaplasia - adenocarcinoma (IMA) sequenceとして知られている。これまで胃酸がIMA sequenceに強く影響を与えているとされてきたが、現在では特に食道腺癌の発生に関しては、十二指腸液の方がより関与していると考えられている。

我々はこれまでに、ラットを用いて十二指腸食道逆流モデルを作製し、発癌剤を用いることなく食道腺癌を発生させることを報告してきた^{3,4)}。さらに我々は本モデルにおいて、十二指腸液を含む逆流液が、食道に強力な炎症を引き起こし、円柱上皮化生、異形成、食道腺癌を発生させること、すなわちIMA sequenceに従って進展することを証明した。本論文では、ラットを用いた食道発癌と、それに対する各種の予防方法について概説する。

1. 外因性発癌物質による食道発癌

食道の発癌実験は、歴史的に2,6-dimethyl nitrosomorpholine (DMNM), methyl-n-amyl nitrosamine (MNAN), N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA) などの発癌物質を用いて行われていた。このような発癌物質により発生する食道癌は、病理組織学的には扁平上皮癌であることが知られていたが、それに食道空腸吻合を追加して十二指腸液を食道に逆流させると、下部食道に腺癌の発生することがわかってきた⁵⁾。1992年Attwoodらは、ニトロソアミンを使用したラットのモデルにおいて、胃食道逆流群 (食道胃形成術) と十二指腸胃食道逆流群 (図1a) を作製し、食道癌の発生率と病理組織型を比較検討した⁶⁾。それによると、各群の発癌率はニトロソアミン (DMNM またはMNAN) のみを投与した群では25-30%、DMNM併

用胃食道逆流群でも20%であったのに対して、ニトロソアミン併用十二指腸食道逆流群では67-80%にも達したと報告されている。さらに胃食道逆流群ではすべて扁平上皮癌であったが、十二指腸食道逆流群では半数が腺癌であったとしている。また興味深いことに、発癌剤を投与していなかった十二指腸食道逆流モデルの1頭に腺癌の発生が見られたのである。

すなわちニトロソアミンによる食道発癌モデルにおいて、十二指腸液を食道内に逆流させることにより、発癌率が上昇し、腺癌が増加することが示され、さらに十二指腸液それ自体で発癌する可能性が示唆された。

2. 十二指腸食道逆流のみによる食道腺癌の発生

1994年我々は、ラットを用いて十二指腸食道逆流モデルを作製し、発癌剤を用いることなく円柱上皮化生、扁平上皮癌、腺癌を発生させることを報告したが³⁾、その後いくつかの論文が、逆流モデルにおける食道腺癌の発生に発癌剤は必要ないことを支持している^{7,8)}。食道逆流モデルに関しては、これまでにいろいろな方法が報告されている (図1)。我々は食道逆流液の内どのような成分が食道腺癌の発生に関与しているかを調べるために、図2に示すような4つのモデルを作製し検討した⁴⁾。具体的には duodeno-esophageal reflux model (DER) は十二指腸液のみの逆流、 gastroesophageal reflux model (GER) は胃液のみの逆流、 duodenogastroesophageal reflux model (DGER) は胃十二指腸液の混合液の逆流であり、 Roux-

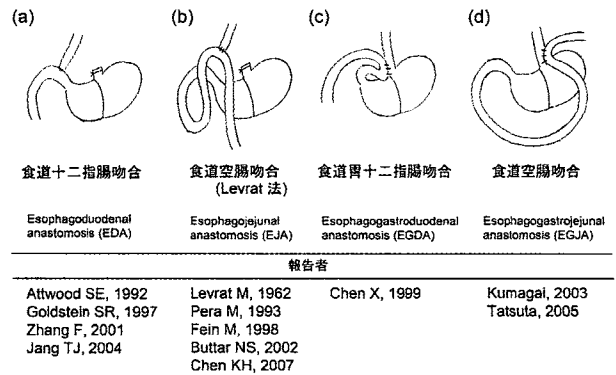


図1. ラット胃十二指腸食道逆流モデル
これまでに多数のラットの逆流モデルが報告されているが、図1の (a) から (d) にまとめられる。いずれのモデルも十二指腸液のみならず、胃液も逆流するのが特徴である。

en Y esophagojejunostomy model (RY) はいずれの逆流もないモデルである。発癌剤を投与せずに50週後に屠殺し検索したところ、食道腺癌の発生率はDER 7/13 (54%), GER 0/16 (0%), DGER 9/12 (75%), RY 0/11 (0%) であり、腺癌は十二指腸液を含む逆流モデルのみに発生することが判明した。Feinらも食道空腸吻合モデルを用いて48%の実験動物に発癌剤を使用することなく食道腺癌が発生したことを報告しているが⁷⁾, pH 1.8の酸性水を飲用させた群での発癌率は低い傾向であったと述べている。以上のことから、食道腺癌の発生には発癌剤は不要であること、また胃液のみの逆流では発生せず、十二指腸液もしくは胃と十二指腸液の混合液の逆流により発生することが明らかになった。

3. Inflammation-metaplasia-adenocarcinoma (IMA) sequence

ラットを用いた十二指腸食道逆流モデル (DER model, 図2b) における、肉眼的な食道粘膜の継時的変化を図3に示す⁹⁾。組織学的には、術後10週目にリンパ球など小円形細胞を中心とした炎症性細胞浸潤がみられ、20週目に最も強く認められる。また、中部から下部食道にかけて再生肥厚が出現し、20週目にはびらんを伴う基底細胞過形成が認められるようになり、さらに粘膜基底層に腺管構造が散在的に出現する。これらの腺管は粘液の少ない細胞からなる円柱上皮であり、増殖帯より深部に認められる。この病変を構成する細胞はGOS陽性、Con A陰性、HID-AB陰性であり、胃の腺窩細胞によく似た性状を示している。

30週目には、基底細胞過形成とびらんの混在した病変が、食道空腸吻合部から口側に進展するようになる。これらの腺管構造は深部へ潜りこみ、嚢胞状増殖をきたすが、先進部の細胞は粘液産生が多くなり、HID-AB陽性となり、偽幽門腺化生を呈するようになる。さらにHID-AB, GOS, Con Aともに陽性の杯細胞が見られるようになり円柱上皮化生を呈するが、これはヒトの特殊円柱上皮すなわちバレット上皮に相当する化生と考えられている。これらの病変は30週目頃から出現し、40週目にはすべてのラットに見られるようになる。

40週目からは食道空腸吻合部付近で、特殊円柱上皮に囲まれた部位に腺癌が認められる。また、同時期から扁平上皮癌や腺扁平上皮癌も見られるが、これらの癌は腺癌と違って、円柱上皮の広がる部位より口側で、常に周囲に基底細胞過形成を伴うのが特徴である。

以上のように、ラットの逆流モデルにおける炎症から誘導される化生性変化は、腺窩上皮化生、幽門腺化生を経て特殊円柱上皮へと進展する。このような粘膜の化生性変化は、消化管の粘膜に対する慢性的、持続的障害に対する、生体側の共通の反応性変化であると考えられており、gut regenerative cell lineage (GRCL) と呼ばれている¹⁰⁾。一般的に化生は慢性刺激における毒性物質に対する一種の適応反応と考えられているが、それは化生した粘膜が元の組織より毒性物質に対して耐性を有してい

るからである。

4. バレット食道と食道腺癌の予防

1) 外科的介入

逆流防止手術がBEや食道腺癌の発生を抑えられるか否かは議論の分かれるところである。我々は前述のラットの逆流モデルを用いて、一旦作製した逆流モデルを非逆流モデルに変換することにより、BEや食道腺癌の発生が抑制できるかどうかを検討した (図4)¹¹⁾。

200頭のF344雄性ラットに、以下の3つの手術のうちのいずれかを行なった。(1) DER群：胃全摘術+食道空腸吻合 (十二指腸食道逆流あり) (図2b), 術後20, 30, 50週目に屠殺, (2) 再建変更群 (biliary diversion, BD) : DER作製後20週目または30週目に、再建方法をRY法に変更, 初回手術後50週目に屠殺 (3) RY群：胃全摘術+食道空腸吻合 (十二指腸食道逆流なし) (図2d), 術後50週目に屠殺した。DER群における20週, 30週, 50週後におけるBEの発生率は54%, 92%, 100%と上昇していた。20週目及び30週目にRY法に再建を変更した群のBE発生

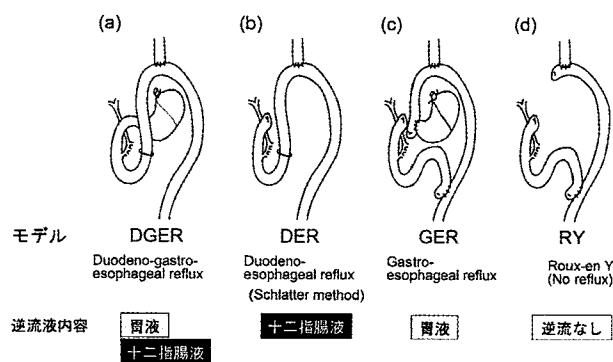


図2. 当科で使用している各種のラット逆流モデルと逆流液内容 (a) Duodeno-gastroesophageal reflux model (DGER) 胃十二指腸液の混合液の逆流 (b) Duodeno-esophageal reflux model (DER) 十二指腸液のみの逆流 (c) Gastroesophageal reflux model (GER) 胃液のみの逆流 (d) Roux-en Y esophagojejunostomy model (RY) いずれの逆流もないモデル

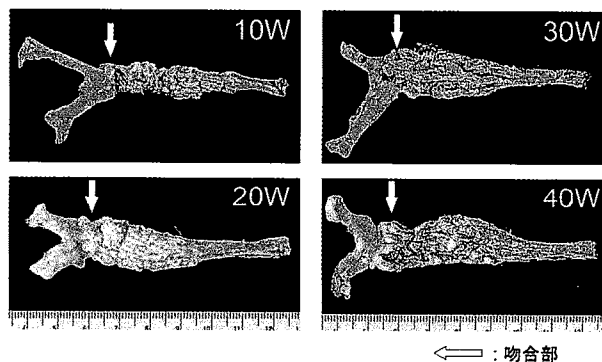


図3. ラット十二指腸食道逆流モデルにおける肉眼的所見の継時的変化
10週目から、吻合部を中心に粗造な結節性の病変が、口側にかけて進展していく。30週目には食道は拡張し、食道壁の肥厚を認めるようになり、40週目には吻合部に隆起性病変が出現している。

率は、それぞれ62%と94%であり、DER群の20週目及び30週目のBE発生率と差は認められなかった。一方、20週目及び30週目に再建を変更した群の50週目の腺癌発生率は、DER群に比較して有意に低率であった。以上の結果から、逆流防止術への再建変更はBEから食道腺癌の進展は抑制できるものの、炎症によって発生するBEの発生自体は予防できないものと考えられた。

臨床的な研究では、Hofstetterらが、BEの患者に対する逆流防止手術の有用性について検討している¹²⁾。彼らは85人中73人の患者にNissen手術を行ない、平均59ヶ月後に評価を行なったところ、腸上皮化生は14%の患者で消失しただけであったが、異形成はほぼ半数の症例で消失、高度異形成や腺癌の発生は認めなかったと報告した。これらの結果は我々の動物実験のデータである、逆流防止によりBEは抑制できないが発癌は抑制できるという結果に合致するものである。一方、Csendesは1980年から2003年までに発行された25編のBEに対する逆流手術を行なった論文を検討した結果、逆流手術後にも低異形成と腺癌がそれぞれ6.0%と3.4%に発生したとし、BEに対する逆流防止手術の発癌防止効果について疑問視している¹³⁾。

一般的に食道逆流に対する逆流防止手術は、食道胃接合部を胃穹隆部で巻きつける手技のため、逆流の防止という点では不十分である。そこで、新しい逆流防止手術、すなわち幽門側胃切除術、迷走神経切離術により胃酸逆流を根絶した上で、RY型再建術を行なうことにより胆汁逆流を予防する方法が考案された¹⁴⁾。本術式により、BE患者のうち60%は腸上皮型から胃底腺型へ改善し、また高度異形成と腺癌の発生は認められなかったと報告されており、根本術式として非常に良好な成績をあげている。

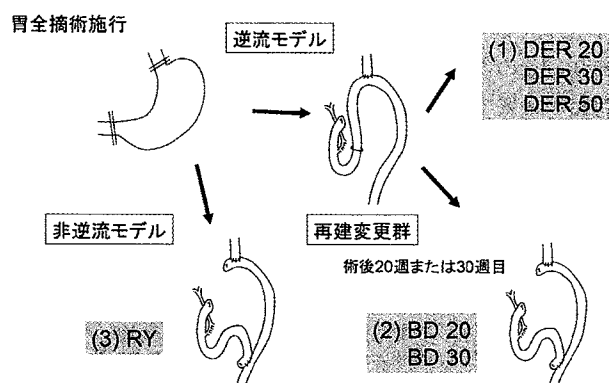


図4. 逆流防止手術への再建変更モデル (文献16からの改変)

F344雄性ラットに胃全摘術を施行し、次のいずれかの再建を行なった。(1)DER 20, DER 30, DER 50群は、食道空腸吻合(十二指腸食道逆流あり)を行い、術後20, 30, 50週目に屠殺(2)再建変更(biliary diversion, BD)群 BD 20, BD 30群は、一旦DER群と同様に逆流モデルを作製し、20週目または30週目に、再建方法をRY法に変更、初回手術後50週目に屠殺(3)RY群は、食道空腸吻合(十二指腸食道逆流なし)を行ない、術後50週目に屠殺。

2) 化学予防 (Chemoprevention)

1976年にSpornらは化学予防 (chemoprevention) という概念を提唱し、「生理的な方法で前がん細胞を死滅させたり、元の正常な細胞に戻すこと」と定義している¹⁵⁾。近年、プロトンポンプ阻害薬、非ステロイド性抗炎症薬、選択的シクロオキシゲナーゼ2阻害薬、緑茶、レチノール酸、チオプロリンなどの薬剤が食道腺癌の発生を抑制することが報告されている¹⁶⁾。我々はラットの逆流モデルを使用して、ラベプラゾール、チオプロリン、セレコキシブ投与によるIMA sequenceに対する予防効果を検討した。

A. プロトンポンプ阻害薬 (Proton pump inhibitors, PPIs)

ヒスタミン H_2 受容体拮抗薬やPPIによる強力な制酸作用が、逆流防止手術の代用になるのではないかと期待されている。Miyashitaらはラットの十二指腸胃食道逆流モデル(図2a)を用いて、ラベプラゾール (rabeprazole, RBZ) の食道癌に対する化学予防効果を検討した¹⁷⁾。BEと食道癌の発生頻度は、コントロール群が100% (23/23)と74% (17/23)であったのに対して、RBZ投与群では65% (11/17)と29% (5/17)であり、有意に低率であった。すなわちRBZはBEのみならず食道癌の発生も抑制すると考えられる。ただしこの機序については、PPIの酸分泌抑制作用以外に、RBZが炎症を抑えることによりIMA sequenceに影響を与えている可能性がある。

疫学的な研究において、PPIの長期服用によりBE患者における異形成と腺癌の発生が低率になることが示されている^{18,19)}。一方、イギリスとアメリカで行なわれた2つのケースコントロール研究によれば、酸抑制では食道腺癌の発生は抑制できなかったと報告されている^{20,21)}。従って、制酸薬が本当に異形成と腺癌の発生を予防できるかどうか、まだ明らかになっていない。現在BEを有する患者に対して高度異形成や腺癌への進行を抑制するために、エソメプラゾールとアスピリンの併用効果を検討する大規模多施設共同第III相試験AspECT (Aspirin Esomeprazole Chemoprevention Trial) が進行中であり、結果が期待される場所である²²⁾。

B. チオプロリン (Thioprolone, TPRO)

チオプロリン (Thioprolone, TPRO) は、亜硝酸捕捉剤の一つであり、発癌性のN-ニトロソ化合物の産生を抑えることが知られている。食物中の硝酸を亜硝酸に変換する硝酸還元菌は、萎縮性胃炎や胃切除術など胃内の酸性度が低下する環境では、過剰に増殖することが可能となる。このような状態で増加した亜硝酸が食物中のアミンやアミドと結合することにより、N-ニトロソ化合物が産生され発癌を促すと考えられるが、TPROはこの反応を競合的に阻害するのである。

我々はTPROがIMA sequenceにどのような影響を与えるかどうかを、Fisher 344 ラットに全胃を温存した食道空腸吻合(胃十二指腸食道逆流モデル)(図2a)を施行し、TPRO投与群とコントロール群とで比較した²³⁾。45週で

屠殺して検討したところ、BEと食道腺癌の発生率は、コントロール群では94%と69%であったのに対して、TPRO群では67%と17%であった。統計学的には食道腺癌の発生率には有意差が認められたものの、BEの発生率には差は認められなかった。したがって、TPROはBEから食道腺癌の進展は抑制できるものの、炎症によって誘導されるBEの発生自体は予防できないものと考えられた。

Kumagaiらも別のラット逆流モデル(図1d)を使用し、同様の実験を行っているが、食道腺癌はコントロール群では38.9%に発生したのに対して、TPRO群では1例も認められなかったとしている²⁴⁾。さらにiNOSタンパクが両群のBEに過剰発現していたことから、TPROが硝酸還元菌によって合成されるN-ニトロソ化合物の産生を競合阻害するのみならず、十二指腸液に由来するNO、ONOO⁻やN-ニトロソ化合物などの活性窒素の産生も抑制するのではないかと、推論している。

C. 非ステロイド性抗炎症薬 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs), 特に選択的シクロオキシゲナーゼ2阻害薬 (selective cyclooxygenase-2 inhibitors, COXIBs)

疫学的にアスピリンやNSAIDの常用者は、食道腺癌の発生が低いことが知られている²⁵⁾。多くの論文において、食道扁平上皮癌のみならず、BEや食道腺癌でCOX-2の発現が増強していることが報告されている^{26,27)}。そしてCOX-2の発現は、バレット化生では75%、軽度異形成では83%、高度異形成と腺癌では100%と、IMA sequenceにしたがって増強する²⁸⁾。これまでに十二指腸食道逆流モデルを用いた食道腺癌発生実験系において、NSAIDまたはCOXIBを使用した研究が3つ報告されている。NSAIDの一つであるスリダクは、おそらくCOX-2を阻害することにより、十二指腸胃食道逆流モデル(図1c)において食道腺癌の発生を抑制する²⁹⁾。

Buttarらは、別の十二指腸胃食道逆流モデル(図1b)を用いて、世界で初めてCOXIBの一つであるMF-tricyclicによるBEと食道腺癌の予防効果を検討した³⁰⁾。

コントロール群



セレコキシブ群



図5. ラット十二指腸食道逆流モデルの切除標本写真(文献40からの改変)

コントロール群とセレコキシブ群の40週目のラットの食道の代表的な肉眼的所見を示す。コントロール群の食道粘膜は、セレコキシブ群と比較して明らかに粗造で肥厚している。

試験薬の投与は術後4週目に開始、平均28週目に屠殺され、病変の評価が行なわれている。その結果、食道腺癌の発生率はコントロール群が51%に対して、MF-tricyclic群は23%と有意に抑制されていた。一方、MF-tricyclicはコントロールと比較して、炎症の程度を改善していたが、円柱上皮化生の頻度はそれぞれ80%、82.8%と差は認められなかった。すなわちMF-tricyclicは食道腺癌の発生は抑制させたが、BEの発生は予防できなかったことになる。

これに対して、我々はFisher 344ラットに胃全摘術を行って十二指腸食道逆流モデル(図2b)を作成し、セレコキシブ(Celecoxib, CLX)の効果を検討した³¹⁾。術後1週目からCLXを投与し40週後に屠殺を行いコントロール群と比較した。食道腺癌はコントロール群では47%に見られたのに対して、CLX群には発生がみられなかった($p < 0.05$) (図5)。また、円柱上皮化生の頻度はコントロール群が89%に対して、CLX群は25%と有意に抑制されていた($p < 0.005$)。さらに、CLXでは、食道炎の程度は軽く、扁平上皮の再生肥厚、基底細胞過形成などの病変も抑制されていた。我々は本実験において、経時的にCOX-2 mRNAの発現とPGE₂の産生量を検討した。コントロール群ではCOX-2 mRNA、PGE₂ともに10週目をピークとして非手術群より著明に上昇していた。一方、CLX投与群ではCOX-2 mRNAの発現には変化はなかったが、PGE₂産生は10から40週目にかけて有意に抑制されていた。以上の結果から、CLXはPGE₂の産生を抑制することにより、BEの発生のみならず、食道腺癌の発生を予防することが示された。

おわりに

IMA sequenceを介した食道発癌は、ウイルス性肝炎からの肝癌発生、*H. pylori*胃炎からの胃癌発生と同様に、持続的な慢性炎症関連発癌モデルの一つと考えられる。今後食道腺癌は欧米のみならず本邦でも増加することが予想されるため、その予防対策は急務である。化学予防は生理的な方法で癌を抑制しうる理想的な手段の一つであり、そのために有効な物質(食物、薬剤など)の発見、開発が必要である。我々が確立したラット十二指腸食道逆流モデルは、薬剤の有効性を検証する実験系として有用であると考えられる。

謝 辞

本総説執筆にあたりご指導を賜りました金沢大学大学院医学系研究科がん局所制御学講座太田哲生教授、ならびに一連の研究のご指導を賜りました同講座前教授三輪見一先生に深謝いたします。また実験にご協力いただいた金沢大学大学院医学系研究科がん局所制御学講座、宮下知治、尾山勝信、西島弘二、佐々木省三の各先生、病理組織学的診断を賜りました滋賀医科大学分子病理学前教授服部隆則先生に心よりお礼申し上げます。さらに日頃臨床と研究に奮闘している金沢大学大学院医学系研究科がん局所制御学教室の各位に感謝いたします。最後に、今回の執筆の機会を与えてくださいました金沢大学十全医学会編集委員長井関尚一教授ならびに関係方々に厚くお礼申し上げます。

References

- 1) Pera M. Epidemiology of esophageal cancer, especially adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction. *Recent Results Cancer Res.* 155: 1-14, 2000.

- 2) Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF Jr. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United states. *Cancer* 83: 2049-2053, 1998.
- 3) Miwa K, Segawa M, Takano Y, Matsumoto H, Sahara H, Yagi M, Miyazaki I, Hattori T. Induction of oesophageal and forestomach carcinomas in rats by reflux of duodenal contents. *Br. J. Cancer* 70: 185-189, 1994.
- 4) Miwa K, Sahara H, Segawa M, Kinami S, Sato T, Miyazaki I, Hattori T. Reflux of duodenal or gastro-duodenal contents induces esophageal carcinoma in rats. *Int. J. Cancer* 67: 269-274 1996.
- 5) Pera M, Cardesa A, Bombi JA, Ernst H, Pera C, Mohr U. Influence of esophagojejunostomy on the induction of adenocarcinoma of the distal esophagus in Sprague-Dawley rats by subcutaneous injection of 2,6-dimethylnitrosomorpholine. *Cancer Res.* 49: 6803-6808, 1989.
- 6) Attwood SE, Smyrk TC, DeMeester TR, Mirvish SS, Stein HJ, Hinder RA. Duodeno-esophageal reflux and the development of esophageal adenocarcinoma in rats. *Surgery* 111: 503-510, 1992.
- 7) Fein M, Peters JH, Chandrasoma P, Ireland AP, Oberg S, Ritter MP, Bremner CG, Hagen JA, DeMeester TR. Duodeno-esophageal reflux induces esophageal adenocarcinoma without exogenous carcinogen. *J. Gastrointest. Surg.* 2: 260-268, 1998.
- 8) Goldstein SR, Yang GY, Curtis SK, Reuhl KR, Liu BC, Mirvish SS, Newmark HL, Yang CS. Development of esophageal metaplasia and adenocarcinoma in a rat surgical model without the use of a carcinogen. *Carcinogenesis* 18: 2265-2270, 1997.
- 9) Miyashita T, Ohta T, Fujimura T, Ninomiya I, Fushida S, Hattori T, Miwa K. Duodenal juice stimulates oesophageal stem cells to induce Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma in rats. *Oncology Reports* 15: 1469-1475, 2006.
- 10) Mukaisho K, Miwa K, Kumagai H, Bamba M, Sugihara H, Hattori T. Gastric carcinogenesis by duodenal reflux through gut regenerative cell lineage. *Dig. Dis. Sci.* 48: 2153-2158, 2003.
- 11) Nishijima K, Miwa K, Miyashita T, Kinami S, Ninomiya I, Fushida S, Fujimura T, Hattori T. Impact of the biliary diversion procedure on carcinogenesis in Barrett's esophagus surgically induced by duodeno-esophageal reflux in rats. *Ann. Surg.* 240: 57-67, 2004.
- 12) Hofstetter WL, Peters JH, DeMeester TR, Hagen JA, DeMeester SR, Crookes PF, Tsai P, Banki F, Bremner CG. Long-term outcome of antireflux surgery in patients with Barrett's esophagus. *Ann. Surg.* 234: 532-538, 2001.
- 13) Csendes A. Surgical treatment of Barrett's esophagus: 1980-2003. *World J. Surg.* 28: 225-231, 2004.
- 14) Csendes A, Braghetto I, Burdiles P, Smok G, Henriquez A, Parada F. Regression of intestinal metaplasia to cardiac or fundic mucosa in patients with Barrett's esophagus submitted to vagotomy, partial gastrectomy and duodenal diversion. A prospective study of 78 patients with more than 5 years of follow up. *Surgery* 139: 46-53, 2006.
- 15) Sporn MB, Dunlop NM, Newton DL, Smith JM. Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids). *Fed. Proc.* 35: 1332-1338, 1976.
- 16) Abrams JA. Chemoprevention of esophageal adenocarcinoma. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 1: 7-18, 2008.
- 17) Miyashita T, Shah FA, Marti GP, Wang J, Bonde P, Gibson MK, Ohta T, Montgomery EA, Duncan M, Harmon JW. Rabeprazole impedes the development of reflux-induced esophageal cancer in a surgical rat model. *Dig. Dis. Sci.* 56: 1309-1314, 2011.
- 18) Hillman LC, Chiragakis L, Shadbolt B, Kaye GL, Clarke AC. Proton-pump inhibitor therapy and the development of dysplasia in patients with Barrett's oesophagus. *Med. J. Aust.* 180: 387-391, 2004.
- 19) El-Serag HB, Aguirre TV, Davis S, Kuebler M, Bhattacharyya A, Sampliner RE. Proton pump inhibitors are associated with reduced incidence of dysplasia in Barrett's esophagus. *Am. J. Gastroenterol.* 99: 1877-1883, 2004.
- 20) García Rodríguez LA, Lagergren J, Lindblad M. Gastric acid suppression and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a nested case control study in the UK. *Gut* 55: 1538-1544, 2006.
- 21) Farrow DC, Vaughan TL, Sweeney C, Gammon MD, Chow WH, Risch HA, Stanford JL, Hansten PD, Mayne ST, Schoenberg JB, Rotterdam H, Ahsan H, West AB, Dubrow R, Fraumeni JF Jr, Blot WJ. Gastroesophageal reflux disease, use of H2 receptor antagonists, and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Causes Control* 11: 231-238, 2000.
- 22) Das D, Chilton AP, Jankowski JA. Chemoprevention of oesophageal cancer and the AspECT trial. *Recent Results Cancer Res.* 2009, 181: 161-169, 2009.
- 23) Sasaki S, Miwa K, Fujimura T, Oba M, Miyashita T, Kinami S. Ingestion of thioproline suppresses rat esophageal adenocarcinogenesis caused by duodenogastroesophageal reflux. *Oncol. Rep.* 18: 1443-1449, 2007.
- 24) Kumagai H, Mukaisho K, Sugihara H, Miwa K, Yamamoto G, Hattori T. Thioproline inhibits development of esophageal adenocarcinoma induced by gastroduodenal reflux in rats. *Carcinogenesis* 25: 723-727, 2004.
- 25) Farrow DC, Vaughan TL, Hansten PD, Stanford JL, Risch HA, Gammon MD, Chow WH, Dubrow R, Ahsan H, Mayne ST, Schoenberg JB, West AB, Rotterdam H, Fraumeni JF Jr, Blot WJ. Use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7: 97-102, 1998.
- 26) Wilson, KT, Fu S, Ramanujam KS, Meltzer SJ. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. *Cancer Res.* 58: 2929-2934, 1998.
- 27) Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res.* 59: 198-204, 1999.
- 28) Morris CD, Armstrong GR, Bigley G, Green H, Attwood SE. Cyclooxygenase-2 expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. *Am. J. Gastroenterol* 96: 990-996, 2001.
- 29) Chen X, Li N, Wang S, Hong J, Fang M, Youselfson J, Yang P, Newman RA, Lubet RA, Yang CS. Aberrant arachidonic acid metabolism in esophageal adenocarcinogenesis, and the effects of sulindac, nordihydroguaiaretic acid, and alpha-difluoromethylornithine on tumorigenesis in a rat surgical model. *Carcinogenesis* 23: 2095-2102, 2002.
- 30) Buttar NS, Kenneth KW, Leontovich O, Westcott JY, Pacifico RJ, Anderson MA, Krishnadath KK, Lutzke LS, Burgart LJ. Chemoprevention of esophageal adenocarcinoma by COX-2 inhibitors in an animal model of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 122: 1101-1112, 2002.
- 31) Oyama K, Fujimura T, Ninomiya I, Miyashita T, Kinami S, Fushida S, Ohta T, Miwa K. A COX-2 inhibitor prevents the esophageal inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence in rats. *Carcinogenesis* 26: 565-570, 2005.