

# Histogenesis of esophageal carcinoma induced by duodenal reflux in rats

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9265">http://hdl.handle.net/2297/9265</a>

## ラットにおける十二指腸液逆流による食道発癌の経時的観察

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)

佐藤 貴 弘

十二指腸液の逆流でラットに食道癌が発生する。この発癌過程を経時的に観察するため、体重 250g 前後のウイスター系雄性ラットに胃全摘術を行い、食道に十二指腸液が逆流する Schlatter 法、逆流しない Roux-en-Y 法で再建し、それぞれ十二指腸液食道逆流 (duodeno-esophageal reflux, DER) 群 (n=120)、十二指腸液食道非逆流 (duodeno-esophageal non-reflux, DENR) 群 (n=100) とした。耐術動物数は DER 群107匹、DENR 群71匹で、これらを術後10週毎に無作為抽出し、犠牲死させ、食道を病理組織学的に検索した。検索動物数は DER 群、DENR 群の順に、術後1週が8匹、6匹、術後10週が12匹、8匹、術後20週が12匹、10匹、術後30週が11匹、10匹、術後40週が11匹、8匹、術後50週が16匹、11匹であった。DER 群の術後1週では下部食道にびらん、再生肥厚、基底細胞過形成が認められた。10週では、食道の吻合部から口側に向け、パレット上皮、びらん、扁平上皮異形成、基底細胞過形成、そして再生肥厚などの病変が帯状に配列していた。円柱上皮異形成はパレット上皮の吻合部付近に20週で発生した。腺癌は円柱上皮異形成より発生し、20週と30週に各8%、9%認められ、40週で45%、50週では44%と発癌率は増加した。扁平上皮癌、腺扁平上皮癌は吻合部より離れた扁平上皮異形成および基底細胞過形成の領域より発生した。扁平上皮癌、腺扁平上皮癌の頻度は40週で各9%、50週では各13%であった。以上より、逆流性食道炎からパレット上皮、腺癌、また基底細胞過形成から扁平上皮癌・腺扁平上皮癌への発癌過程が示唆された。

**Key words** Barrett's esophagus, carcinogenesis, duodenal reflux, esophagus, reflux esophagitis

食道癌の原因は明らかではないが、逆流による食道下部での円柱上皮化生、異形成、腺癌 (adenocarcinoma, ADC) の発生は広く臨床的に認められている。逆流する液の何がこの発癌を引き起こすかは、論議の多いところであるが、含まれる十二指腸液の発癌作用が最も有力な原因と考えられている。十二指腸液の発癌性は、すでに残胃発癌リスクの疫学調査<sup>1)5)</sup>、さらにラットでの胃発癌実験で明らかにされている<sup>6)~13)</sup>。また、胃切除後では下部食道に食道癌が発生しやすく<sup>14)~16)</sup>、しばしば十二指腸液の逆流による食道炎が起こることも、この可能性を推測させる事実である。

実験的には、発癌物質を投与されたラットで十二指腸液食道逆流 (duodeno-esophageal reflux, DER) により食道癌の発生頻度が増加することが報告されており<sup>17)~19)</sup>、これは十二指腸液が発癌のプロモーター作用を有することを示すものである。しかし、近年、発癌剤を投与しなくても DER のみでパレット食道や食道癌が誘発され<sup>20)21)</sup>、十二指腸液は発癌のプロモーター作用だけでなく、イニシエーター作用をも有することが判明している。

筆者は、胃全摘後に十二指腸液が食道に逆流するラットを作成し、DER による食道発癌の組織発生を経時的に検索したので報告する。

### 材料および方法

#### I. 実験材料および飼育条件

体重 250g 前後のウイスター系雄性ラット220匹を用いた。室

温は $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $55 \pm 5\%$ に保ち、各ケージ2~3匹づつに分けて飼育した。CRF-1 固形飼料 (日本チャールズリバー、神奈川) を自由摂取させ、飲料水は水道水を用いた。全実験期間を通じ発癌剤は一切使用しなかった。

#### II. 実験方法

##### 1. 手術方法

24時間の絶食の後、ジエチルエーテル吸入麻酔下に上腹部正中切開で開腹し、胃を全摘した。その後、以下の方法で消化管を再建した。

##### 1) DER 再建

Schlatter 法、すなわち、十二指腸断端を閉鎖し、食道断端とトライツ靭帯から4cmの上部空腸とを端側吻合した。この手術により、十二指腸液は食道内に逆流する。これらの動物を DER 群とした。

##### 2) 十二指腸液食道非逆流 (duodeno-esophageal non-reflux, DENR) 再建

Roux-en-Y 法、すなわち、トライツ靭帯から4cmの上部空腸を切離、肛門側端を挙上し、食道断端と端側吻合した。さらに食道空腸吻合部より肛門側に10cmの部位を空腸断端と側々吻合した。この手術では十二指腸液は食道に逆流しない。これらの動物を DENR 群とした。

消化管吻合は針付き7-0絹糸を用い、全層の結節縫合を行った (図1)。術後24時間は絶食とし、1日目より水分、2日目より食餌を与えた。

平成8年11月28日受付、平成9年1月9日受理

Abbreviations: ADC, adenocarcinoma; ASC, adenosquamous carcinoma; BCH, basal cell hyperplasia; BE, Barrett's epithelium; DER, duodeno-esophageal reflux; DENR, duodeno-esophageal non-reflux; ERO, erosion; RT, regenerative thickening; RY, Roux-en-Y; SCC, squamous cell carcinoma

2. 実験群作製

DER 群 120匹, DENR 群100匹を作製した. 両群で術後1, 10, 20, 30, 40, 50の各週に無作為に抽出し, 犠牲死させた. 犠牲死はエーテル深麻酔にて行った.

3. 病理組織学的検索法

ラットは呼吸停止後, 開腹・開胸し食道を周囲組織より剥離し, 甲状軟骨直下の高さで食道を切離し, 吻合された小腸とともに食道を摘出した. 食道は前壁で切開し, 10%ホルマリン液で24時間固定後, 食道長軸に沿う3mm 間隔で切り出し, パラフィンで包埋した. このブロックを5 $\mu$ m で薄切し, HE 染色で組織学的に検索した.

4. 病理学的記載法

細胞異型, 構造異型を有し, 粘膜下層以下に浸潤増殖する上皮組織を癌と定義した. ADC は腺管あるいは粘液結節を形成

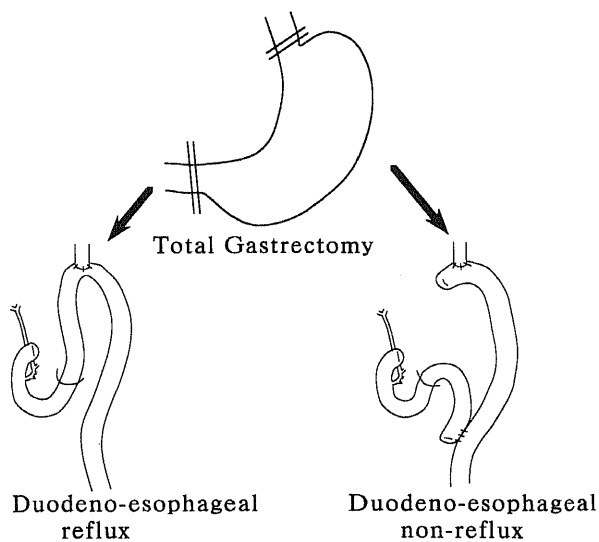


Fig. 1. Diagram of surgical procedures. In the duodeno-esophageal reflux (DER) group, after total gastrectomy with closure of the duodenal stump, the esophageal stump is then anastomosed end-to-side to the jejunum approximately 4 cm distal to Treiz's ligament. This surgery induces reflux of duodenal contents into the esophagus. In the duodeno-esophageal non-reflux (DENR) group, total gastrectomy is performed and the duodenal stump is closed with sutures. The jejunum is cut approximately 4 cm distal to Treiz's ligament, and the distal end is closed with sutures. The esophageal stump is anastomosed end-to-side with the distal jejunum near its sutured cut end. The proximal jejunal cut end is anastomosed side-to-side to the jejunum approximately 10 cm distal from the esophago-jejunostoma. This procedure prevents reflux into the esophagus.

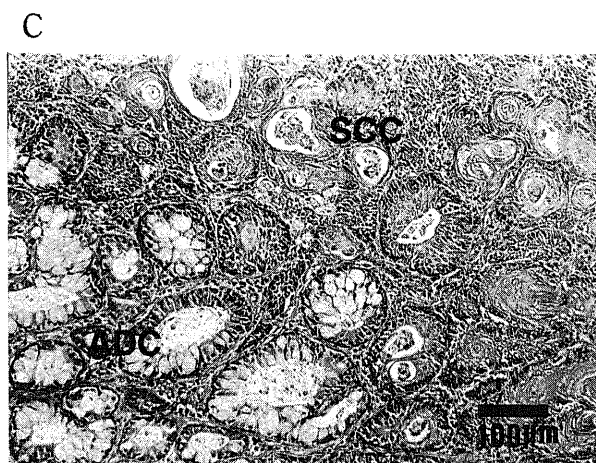
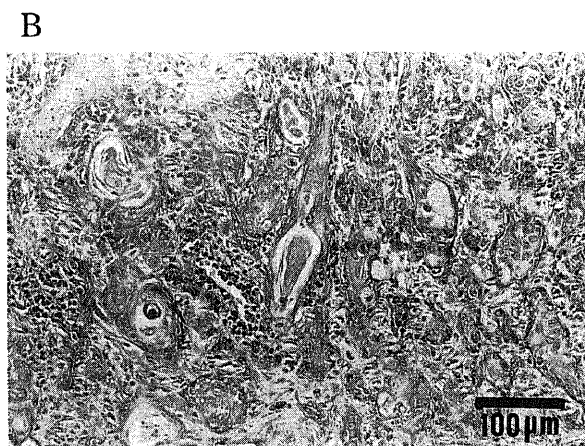
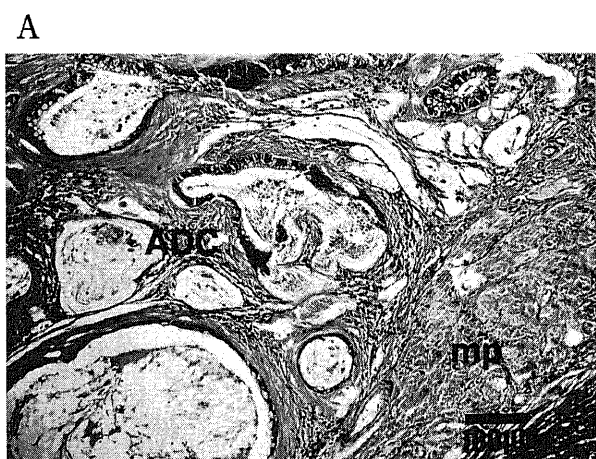


Fig. 2. Histology of esophageal carcinoma. (A) Mucinous adenocarcinoma in the lower esophagus of a rat in the DER group 40 weeks after surgery. Adenocarcinoma invades into muscularis propria. HE stain. (B) Squamous cell carcinoma in the middle esophagus of a rat in the DER group 40 weeks after surgery. HE stain. (C) Adenosquamous carcinoma in the middle esophagus of a rat in the DER group 40 weeks after surgery. Both components, squamous and glandular cancer, are found in the mucosa. Transition from squamous cell carcinoma to adenocarcinoma is observed. HE stain. ADC, adenocarcinoma; mp, muscularis propria; SCC, squamous cell carcinoma.

する癌 (図 2A) とし, 扁平上皮癌 (squamous cell carcinoma, SCC) は充実性の胞巣を形成し, 重層扁平上皮への分化を示す癌 (図 2B) とした. また, ADC と SCC の両成分が 1 つの癌巣内に混在している癌を腺扁平上皮癌 (adenosquamous carcinoma, ASC) とした (図 2C). 癌の組織型および組織学的深達度の判定は, 食道癌取り扱い規約第 8 版<sup>20)</sup>に準じた.

背景粘膜の病変を, びらん (erosion, ERO), 再生肥厚 (regenerative thickening, RT), 基底細胞過形成 (basal cell hyperplasia, BCH), 扁平上皮異形成 (squamous dysplasia), バレット上皮 (Barrett's epithelium, BE), 円柱上皮異形成 (columnar dysplasia) に分類した. 定義は ERO が上皮が脱落し, 炎症細胞の浸潤を認めるもの (図 3A) とし, 上皮の欠損部に壊死物質の付着が認められる. RT は上皮が肥厚し, 正常の 2 倍以上の厚さを示すもので, 上皮の層構造は良好に保たれ, 棘細胞の増殖, 乳頭の延長, 不全角化症を伴っているものとした (図 3B). BCH は基底細胞が肥厚し, 上皮の厚さの 15% 以上を占め, 上皮の層構造は保たれているもの (図 3C) で, 扁平上皮異形成は扁平上皮領域で, 異型性を示し, 核は多形性で濃染し, 核分裂像が増加し

ているが, 粘膜下層への浸潤がない病変 (図 3D) とした. BE は食道扁平上皮が円柱上皮と杯細胞に置換され (図 4A), 円柱上皮異形成は BE 領域で腺上皮に異型性を認めるもの (図 4B) とした.

### Ⅲ. 統計処理

病変の発生率の差はカイ 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て検定した. 危険率 5% 未満を有意差ありと判定した.

## 成 績

### I. 検索動物数 (表 1)

術後 1 週以上生存した耐術動物数は DER 群 107 匹, DENR 群 71 匹で, 犠牲死させたもののみを有効動物とし, 自然死は除外した. 検索動物数は DER 群, DENR 群の順に, 術後 1 週が 8 匹, 6 匹, 術後 10 週が 12 匹, 8 匹, 術後 20 週が 12 匹, 10 匹, 術後 30 週が 11 匹, 10 匹, 術後 40 週が 11 匹, 8 匹, 術後 50 週が 16 匹, 11 匹であった. 自然死例の主な死因は, 術死, 腸閉塞, 逆流性食道炎, 誤嚥であり, 癌死したものは認められなかった.

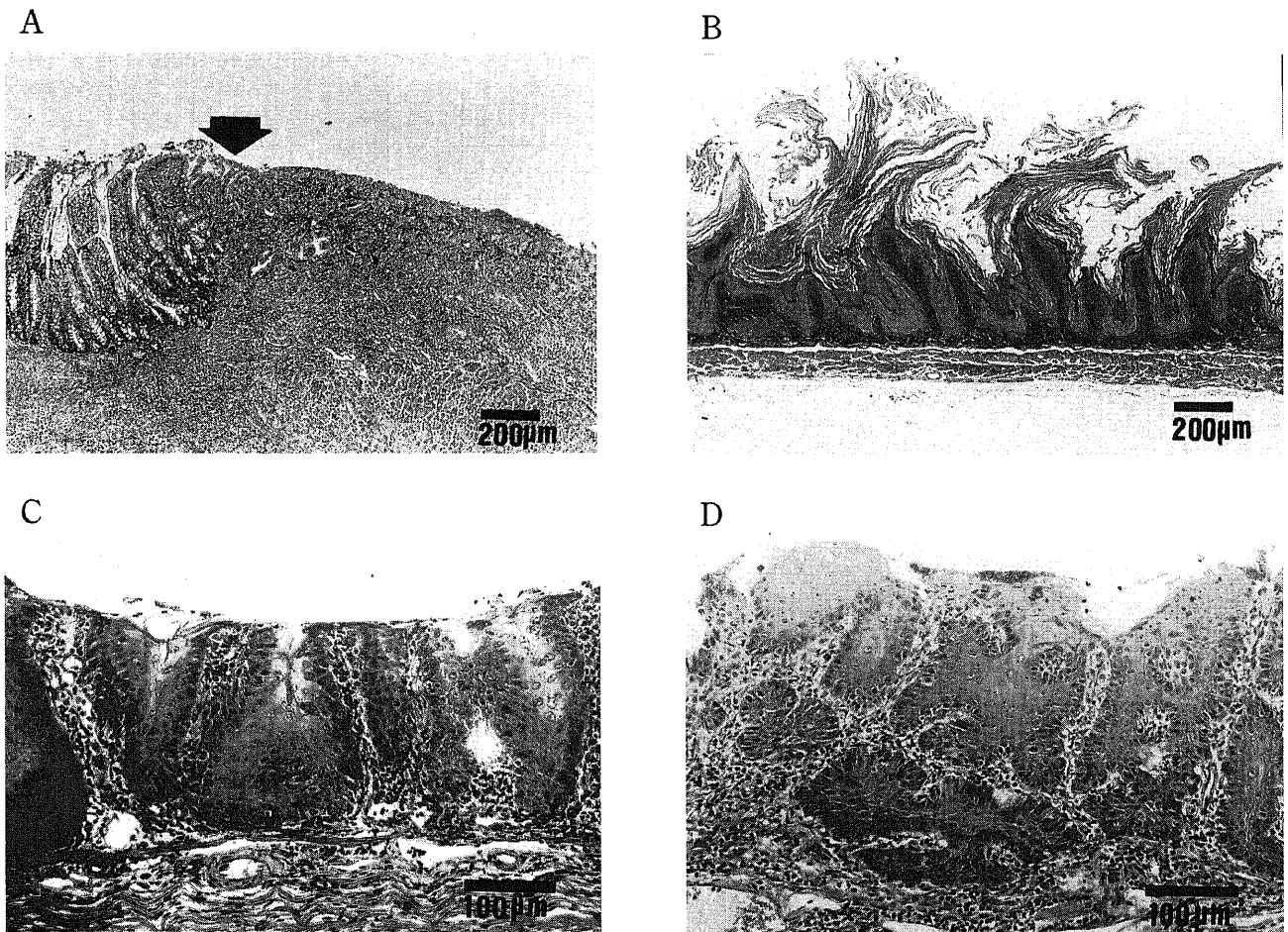


Fig. 3. Histological pictures of reflux esophagitis. (A) Erosion in the lower esophagus of a rat in the DER group 10 weeks after surgery. This demonstrates defects of the epithelium and inflammatory cellular infiltration. This arrow shows anastomotic site. Left side is jejunum and right side is esophagus. HE stain. (B) Regenerative thickening (RT) in the middle esophagus of a rat in the DER group 10 weeks after surgery. This shows an esophageal epithelial layer more than double the thickness, together with acanthosis, abnormal extension of papillae towards the mucosal surface, and parakeratosis. The stratified structure of the epithelium is not disturbed. HE stain. (C) Basal cell hyperplasia (BCH) in the middle esophagus of a rat in the DER group 10 weeks after surgery. This shows thickened basal layer which occupies more than 15% of the epithelial layer. HE stain. (D) Squamous dysplasia in the middle esophagus of a rat in the DER group 30 weeks after surgery. This shows dysplastic squamous cells which have large and polymorphic nuclei, deeply stained chromatin, and increased numbers of mitotic figures. HE stain.

II. 肉眼的腫瘍発生

DER 群の 1, 10, 20, 30 の各週では何れにも腫瘍は認めなかった。40週の 1 例に中部食道に 15×7×7mm 大の有茎性の腫瘍を認め、50週の 2 例に全周性の隆起性病変を認めた。

III. 組織学的所見

1. 癌の発生頻度

DENR 群では何れの週数においても食道に癌は認めず、DER 群にのみ認められた。20週で 8%, 30週では 9% と、20週, 30週での発癌は低率に認めた。しかし、40週で 55%, 50週で 69% に癌を認めた。40週と 50週の癌の発生率に有意差はなかった(表 2)。

発生した癌の個数は 20週, 30週でそれぞれ 1 個, 40週で 7 個, 50週で 11 個であった。40週では下部食道と中部食道の多発癌を 1 例認めた。癌は ADC, SCC, ASC の 3 つの組織型がみられた。

20週, 30週での癌は ADC で、SCC, ASC は ADC に遅れて、

40, 50週に発生した。SCC, ASC とともに 40週で 9% (11 例中 1 例), 50週で 13% (16 例中 2 例) に認められた。ADC の発生率は 40週で 45% (11 例中 5 例), 50週で 44% (16 例中 7 例) であったが、その発生率に両群間で差はなかった(表 3)。

2. 癌の深達度(表 4)

DER 群で、40週では粘膜下層(submucosa, sm)までが 2 個、固有筋層(muscularis propria, mp)までが 3 個、 $a_1$ (わずかに外膜に達しているもの)が 1 個、 $a_2$ (明らかに外膜に出ているもの)が 1 個であった。50週では mp が 7 個、 $a_1$  が 1 個、 $a_2$  が 2 個、 $a_3$ (肝臓に浸潤していたもの)が 1 個であった。40週で認められた有茎性腫瘍は上皮内に高度異型がみられたが、浸潤傾向はなく、癌の定義にあてはまらなかった。50週の下部食道に発生した 2 例の巨大な隆起性病変は、1 例は腺癌の深達度  $a_3$ 、もう 1 例は SCC の深達度  $a_2$  であった。

深達度で 40週と 50週とで差はなかった。

3. 逆流性食道炎の経時的変化(表 5)

ERO は、DER 群の 1 週で 88% に、10週で 92% に、20週以降は全例に認められた。ERO の発生頻度は同じ術後週数において DER 群は DENR 群に比べ、有意に高率であった。

RT は DER 群の 1 週で 88% に、術後 10 週以降は全例に認められた。DENR 群に比べて発生頻度は 1, 10, 20, 30 の各週で有意に高率であったが 40 週と 50 週で差はなかった。

BCH は DER 群で術後 1 週より 25% に認め、術後 10 週以降で DER 群全例に認められた。術後 10 週以降は DER 群における発生頻度は DENR 群に比べて有意に高率であった。

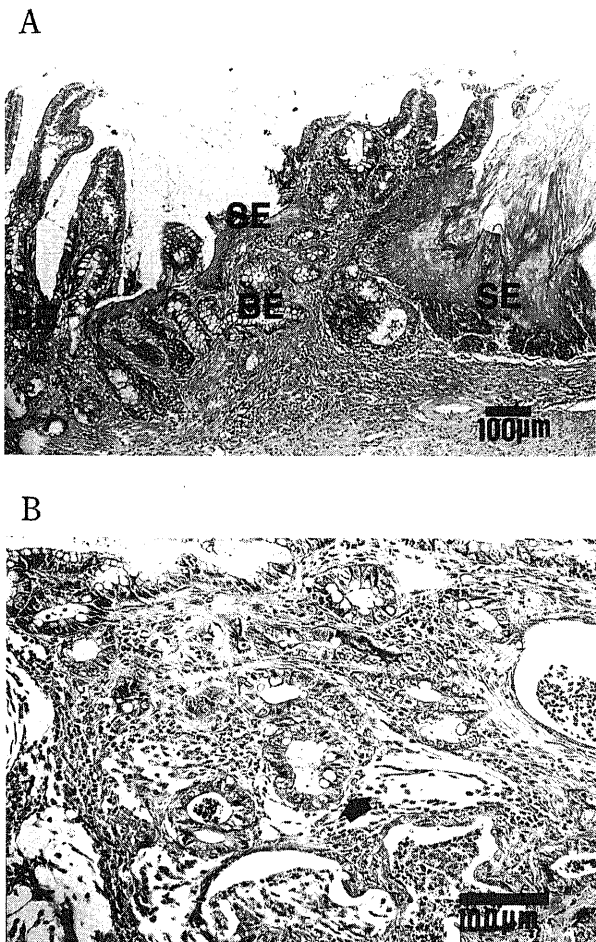


Fig. 4. Histology of Barrett's esophagus and columnar dysplasia. (A) Barrett's epithelium (BE) in the lower esophagus of a rat in the DER group 30 weeks after surgery. Some islands of squamous epithelium remain the epithelium. HE stain. (B) Columnar dysplasia in the lower esophagus of a rat in the DER group 30 weeks after surgery. This arrow demonstrates dysplastic glandular cells which have large and polymorphic nuclei, deeply stained chromatin, and increased numbers of mitotic figures. HE stain. BE, Barrett's epithelium; SE, squamous epithelium.

Table 1. Number of animals examined

Postoperative weeks	No. of animals included group of	
	DER	DENR
1	8	6
10	12	8
20	12	10
30	11	10
40	11	8
50	16	11

DER, duodeno-esophageal reflux ; DENR, duodeno-esophageal non-reflux

Table 2. Incidence of carcinoma

Postoperative weeks	Group	No. of animals examined	No. (%) of animals with carcinoma
20	DER	12	1 (8)
	DENR	10	0 (0)
30	DER	11	1 (9)
	DENR	10	0 (0)
40	DER	11	6(55) ★
	DENR	8	0 (0) ]
50	DER	16	11(69) ★★
	DENR	11	0 (0) ]

DER, duodeno-esophageal reflux ; DENR, duodeno-esophageal non-reflux. ★ p<0.05, ★★ p<0.001 by Fisher's exact test.

扁平上皮異形成は DER 群で術後1週では認められず、術後10週以降で DER 群全例に認められた。術後10週以降は DENR 群に比べ、発生頻度は有意に高率であった。

BE は DER 群の10週で8%に認められ、20週で33%であったが、30週、40週、50週でそれぞれ91%、100%、94%と30週以降は高率に認められた。DENR 群では50週の18%に認められたが、40週以前では認められなかった。30週以降は DER 群における発生頻度は DENR 群に比べて有意に高率であった。

円柱上皮異形成は1週、10週では認められないが、20週ではじめて認められ、30、40、50の各週ではそれぞれ発生率は64%、91%、88%であった。しかし、DENR 群では何れの動物にも円柱上皮異形成は認められなかった。

#### 4. 癌と背景病変の分布

DER 群の1週ではその組織学的病変の分布に規則性を見いだせないが、継続的な十二指腸液の暴露により10週以降では吻合部から食道の口側にむかって帯状の配列を示した。

すなわち、食道の吻合部から口側に向け、BE、ERO、扁平上皮異形成、BCH、そして RT などの病変が帯状に配列していた(図 5A)。円柱上皮異形成は BE の吻合部付近に20週で発生し、ADC は円柱上皮異形成より発生し、20週と30週に各8%、9%認められた(図 5B)。ADC は吻合線付近に BE を背景粘膜として発生し(図 5C)、SCC は BCH の部位より発生していた。ASC は SCC と同様、BCH の部位より発生していたが、SCC より肛門側に位置していた(図 5D)。

Table 3. Histological types of carcinoma in the DER group

Postoperative weeks	No. of animals examined	No. of animals with carcinoma	No. of carcinoma	No. of carcinoma histologically classified as		
				ADC	SCC	ASC
20	12	1	1	1	0	0
30	11	1	1	1	0	0
40	11	6	7 <sup>a)</sup>	5	1	1
50	16	11	11	7	2	2

DER, duodeno-esophageal reflux ; ADC, adenocarcinoma ; SCC, squamous cell carcinoma ; ASC, adenosquamous carcinoma.

<sup>a)</sup> One animal bears two types of carcinoma. One is SCC, the other is ADC.

Table 4. Depth of invasion of carcinoma in the DER group

Postoperative weeks	No. of carcinoma	No. of carcinoma invading into				
		sm	mp	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>
40	7	2	3	1	1	0
50	11	0	7	1	2	1

DER, duodeno-esophageal reflux ; sm, submucosa ; mp, muscularis propria ; a<sub>1</sub>, invasion reaching the adventitia; a<sub>2</sub>, definite invasion into the adventitia; a<sub>3</sub>, invasion into the neighboring structures.

Table 5. Incidence of histopathological findings

Postoperative weeks	Group	No. of animals examined	Incidence (%) of						
			ERO	RT	BCH	Squamous dysplasia	BE	Columnar dysplasia	
1	DER	8	88 <sup>★★</sup>	88 <sup>★★</sup>	25	0	0	0	
	DENR	6	0	0	0	0	0		
10	DER	12	92 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	8	0	
	DENR	8	13	13	13	13	0	0	
20	DER	12	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>*</sup>	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	33	8	
	DENR	10	10	40	10	10	0	0	
30	DER	11	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	91 <sup>★★★</sup>	64 <sup>★★</sup>	
	DENR	10	10	20	0	0	0	0	
40	DER	11	100 <sup>★★★</sup>	100	100 <sup>*</sup>	100 <sup>★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	91 <sup>★★★</sup>	
	DENR	8	13	75	50	38	0	0	
50	DER	16	100 <sup>★★★</sup>	100	100 <sup>★★★</sup>	100 <sup>★★★</sup>	94 <sup>★★★</sup>	88 <sup>★★★</sup>	
	DENR	11	18	73	36	27	18	0	

DER, duodeno-esophageal reflux ; DENR, duodeno-esophageal non-reflux ; ERO, erosion ; RT, regenerative thickening ; BCH, basal cell hyperplasia ; BE, Barrett's epithelium.

★p<0.05, ★★p<0.01, ★★★p<0.001 by Fisher's exact test.

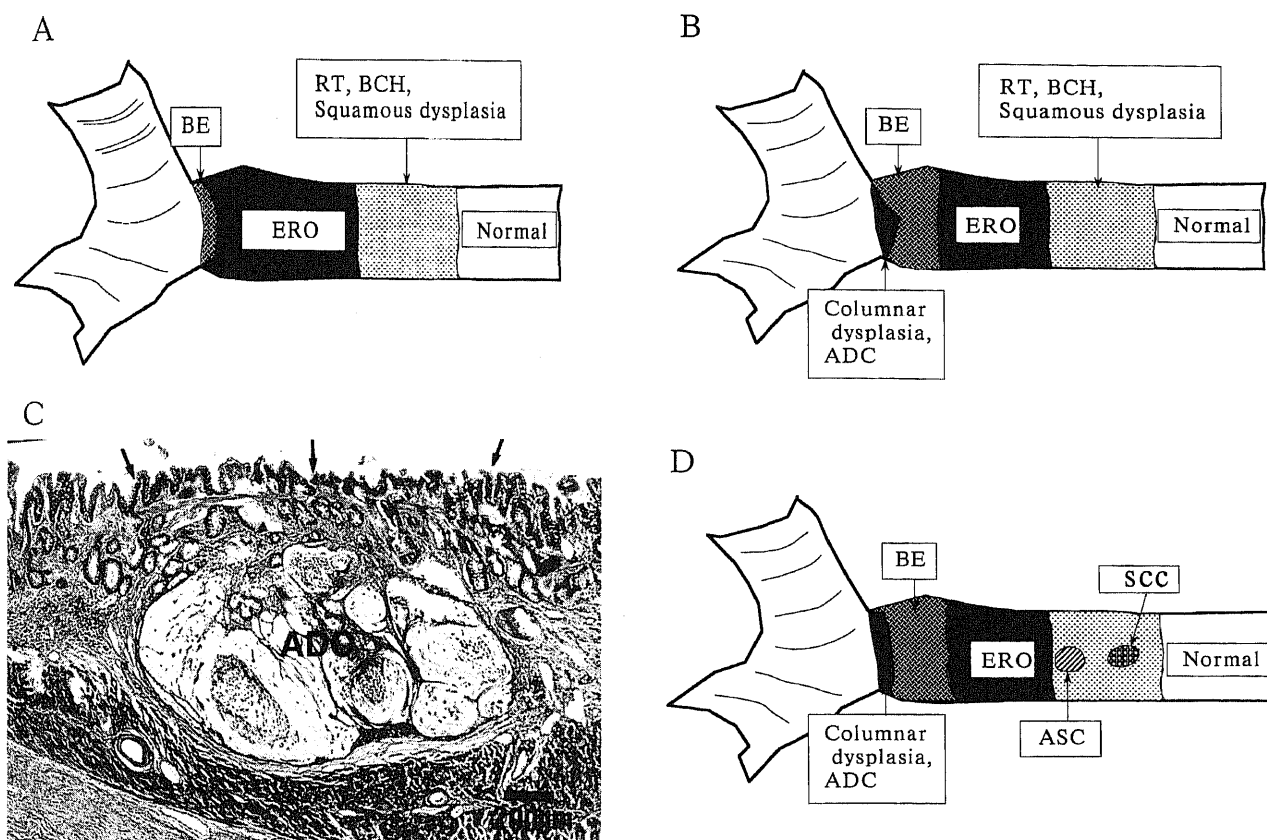


Fig. 5. Topographical relationship between carcinomas and other pathological findings. (A) A map of histological lesions in the DER group 10 weeks after surgery. This shows Barrett's epithelium, erosion and squamous esophagitis including regenerative thickening, basal hyperplasia, and squamous dysplasia are zonally arranged from the anastomotic line to the upper esophagus. (B) A map of histological lesions in the DER group 20 and 30 weeks after surgery. It demonstrates that Barrett's epithelium spreads toward the upper esophagus and columnar dysplasia is detected in the zone of Barrett's epithelium. Adenocarcinoma develops near anastomosis in the area of columnar dysplasia. (C) Light micrograph of concurrent columnar dysplasia and adenocarcinoma. Mucinous adenocarcinoma in the lower esophagus of a rat in the DER group 40 weeks after surgery. Mucinous adenocarcinoma is surrounded by columnar dysplasia. These arrows show columnar dysplasia. HE stain. (D) A map of histological lesions in the DER group 40 and 50 weeks after surgery. It demonstrates that adenosquamous carcinoma and squamous cell carcinoma develop from the proximal esophagitis. Adenosquamous carcinoma is located lower in the esophagus than squamous cell carcinoma. ADC, adenocarcinoma; ASC, adenosquamous carcinoma; BCH, basal cell hyperplasia; BE, Barrett's epithelium; ERO, erosion; SCC, squamous cell carcinoma.

考 察

本実験から、ラットの DER は、食道炎をひきおこし、これより BE, 異形成, ADC へと進展する過程が明らかとなった。同時に、逆流性食道炎から扁平上皮癌が発生することが示された。

臨床におけるバレット食道は、食道の ADC の発生母地で、その発生は逆流と密接に関連することはよく知られている<sup>29)~29)</sup>。しかし、その発癌機構や、逆流する胃液、十二指腸液何れに原因があるかなどは明らかではない。BE の発生の機序は、当初、迷入が考えられていたが<sup>26)27)</sup>、食道粘液腺由来<sup>28)</sup>と胃粘膜の這い上がり (creeping)<sup>29)</sup>が現在有力である。

本実験では、逆流の強い吻合部付近に、ERO が生じ、ここより BE が発生した。そして経過とともに BE の頻度は高まっていた。この経過とラットには食道腺がないこと<sup>30)31)</sup>を考えると、下部の消化管粘膜の這い上がりを支持する所見であった。しかし、動物によっては扁平上皮食道炎の中に、埋没するように円柱上皮組織が観察される場合もあり、基底細胞由来の化生

性のものも否定できない。近年、DER が BE の成因の一つと考えられるようになってきたが<sup>32)~35)</sup>、逆流液の研究で、佐原<sup>24)</sup>は BE は胃液のみの逆流では13%しか発生しないのに対して、十二指腸液のみの逆流で92%、胃十二指腸液では100%と高率に発生するとして、十二指腸液の関与が重要と述べている。

BE の組織型は、Trier<sup>36)</sup>によれば3つの型に分類される。すなわち、腸上皮化生型、胃底腺型、噴門腺型である。このうち、発癌に関係するのは腸上皮化生型で、本実験では ADC および異形成の背景粘膜を成したのはこの型であった。

臨床で、BE の異形成からの癌化<sup>37)38)</sup>、あるいはその鑑別が問題となっている。バレット食道に高度異型上皮を見いだしてから、ADC が発生するまでに臨床的には平均5年間と言われていた<sup>39)</sup>。今回の実験では、バレット食道が発生し、円柱上皮異形成ができはじめるまでに10週間、同様に発癌までに20週間を要した。

本実験での発癌は主として ADC であったが、少数例ながら、食道癌の主たる基本型である SCC が発生した。SCC の発生母地として、中国 Linxian と Huixian 地方の食道炎がよく知られ

ているが<sup>40,41</sup>、逆流性食道炎が SCC と関係するとする記載は稀である。しかし、近年、胃切除後の下部食道に SCC が発生しやすいとの報告がいくつか見られ<sup>42-43</sup>、胃切除術後には逆流性食道炎が高率に発生していること、そしてその逆流液が十二指腸液であることは<sup>42-43</sup>、十二指腸液と SCC 発生との関係を容易に推測させる。ヒトの SCC の周囲には、高率に扁平上皮異形成を認め、扁平上皮異形成が SCC の前癌病変であることはよく知られている<sup>44,45</sup>。ラットの実験で見られた SCC の周囲には扁平上皮異形成が見られ、また細胞動態の亢進した状態と考えられる BCH が見られたのが特徴的であった。著者の実験では扁平上皮異形成は術後10週で出現したが、SCC 発生までにさらに30週を要した。

瀬川<sup>20</sup>は、胃を温存し、かつ十二指腸液が前胃を介して食道へ逆流する手術で、11匹中2匹に食道癌が発生し、いずれも下部食道の SCC であったと報告している。この際、DER は胃液で薄められており、食道に対する十二指腸液の濃度差が癌の基本型に影響を与えているのかも知れない。その背景には、高濃度の十二指腸液にさらされた食道には、扁平上皮は脱落し、十二指腸液に強い円柱上皮しか生着しえない環境があるものと思われる。

本実験では ASC は BCH を背景粘膜として40週より認めた。ASC はヒトでは比較的稀な疾患と報告されており<sup>46-50</sup>、発生母地として、扁平上皮領域の幹細胞から派生するとの報告もある<sup>50</sup>が、食道腺<sup>46,47</sup>、BE<sup>50</sup>のほか、異所性胃粘膜<sup>50</sup>などがあげられている。この実験での ASC の発生部位は中部食道の BCH の領域で、かつ SCC よりも肛門側に位置していた。臨床的には ASC の発生部位は、下部食道に最も多く発生した<sup>49,50</sup>、とする報告がある反面、中部食道が最も多く、ADC よりもむしろ SCC と類似した分布を示した<sup>49</sup>、との報告もみられる。ラットでは胃全摘後状態、かつ BE の領域とは連続しない BCH の領域から発生したことを考え合わせると、ASC は扁平上皮の幹細胞が、腺上皮への分化をしつつ癌化していったものと考えられる。

## 結 論

十二指腸液の逆流による食道癌発生過程を経時的に観察した。

1. DER により、術後1週では下部食道に ERO, RT, BCH が認められた。

2. 術後10週では、食道の吻合部から口側に向け、BE, ERO, 扁平上皮異形成, BCH, そして RT などの病変が帯状に配列していた。

3. 円柱上皮異形成は BE の吻合部付近に20週で発生した。

4. ADC は円柱上皮異形成より発生し、20週と30週に各8%, 9%に認められ、40週で45%, 50週では44%と発癌率は高値となった。

5. SCC, ASC は扁平上皮異形成および BCH の領域より発生した。SCC, ASC の頻度は40週で各9%, 50週では各13%であった。

6. 発癌は40週より高率にみられ、発癌率は40週で55%, 50週で69%で、40週と50週の発癌率に有意差は認められなかった。

以上より逆流性食道炎から BE, そして ADC へ、また BCH より SCC・ASC への発癌過程が示唆された。

## 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隆則教授に御礼を申し上げます。

なお本論文の要旨は第55回日本癌学会総会(1996年、横浜)、The 1st International Conference on Gastroenterological Carcinogenesis (1996, Hiroshima)にて発表した。

## 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 CPJ, Hill MJ, Kirkham JS, Northfield TC. Mortality from gastric cancer following gastric surgery for peptic ulcer. *Lancet* i: 929-931, 1986
- 4) Viste A, Bjørnsted E, Opheim P, Skarstein A, Thunold J, Hartveit F, Eide GE, Eide TJ, Soreide O. Risk of carcinoma following gastric operations for benign disease: A historical cohort study of 3470 patients. *Lancet* ii: 502-504, 1986
- 5) Offerhaus GJA, Tersmette AC, Huibregste K, van de Stadt J, Tersmette KWF, Stijnen TH, Hoedenmaeker PJ, Vandenbroucke JP, Tytgat GNJ. 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) 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, 服部隆則. 胃手術と発癌リスク. *消化器外科* 13: 1505-1512, 1990
- 7) 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
- 8) 藤村 隆. 十二指腸液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-. *日外会誌* 92: 933-939, 1991
- 9) 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-. *日外会誌* 94: 104-113, 1993
- 10) 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
- 11) 木南伸一. 食餌性脂肪と残胃発癌-ラット残胃発癌モデルでの研究-. *十全医会誌* 105: 203-214, 1996
- 12) 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, 瀬川正孝, 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
- 13) Langhans P, Heger RA, 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
- 14) Shearman DJC, Finlayson NDC, Arnott SJ, Pearson JG. Carcinoma of the oesophagus after gastric surgery. *Lancet* i: 581-582, 1970
- 15) Rossi M, Ancona E, Finco C, Peracchia A. Esophageal



- cancer and previous partial gastrectomy. *Int Surg* 69: 369-369, 1984
- 16) 前田通郎, 古賀成昌, 金山博友, 浜副隆一, 小田正之, 村上篤信. 胃切除後の食道癌. *手術* 38: 1419-1424, 1984
- 17) Attwood SEA, 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
- 18) Mirvish SS, Huang Q, Chen SC, Birt DF, Clark GWB, Hinder RA, Smyrk TC, DeMeester TR. Metabolism of carcinogenic nitrosamines in the rat and human esophagus and induction of esophageal adenocarcinoma in rats. *Endoscopy* 25: 627-631, 1993
- 19) Pera M, Cardesa A, Bombi JA, Ernst H, Pera C, Mohr U. Influence of esophageojejunostomy 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
- 20) 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
- 21) 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
- 22) 食道疾患研究会編. 食道癌取扱規約. 改訂第8版, 33-58頁, 金原出版, 東京, 1992
- 23) Maeta M, Koga S, Andachi H, Yoshioka H, Wakatsuki T. Esophageal cancer after gastrectomy. *Surgery* 99: 87-91, 1986
- 24) Macdonald JB, Waissbluth JG, Langman MJS. Carcinoma of the oesophagus and gastric surgery. *Lancet* ii: 19-20, 1971
- 25) Seto Y, Kobori O, Shimizu T, Morioka Y. The role of alkaline reflux in esophageal carcinogenesis induced by N-amyl-N-methylnitrosamine in rats. *Int J Cancer* 49: 758-763, 1991
- 26) Barrett NR. Chronic peptic ulcer of oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg* 38: 175-182, 1950
- 27) Johns BAE. Developmental changes in oesophageal epithelium in man. *J Anat* 86: 431-442, 1952
- 28) Gillen P, Keeling P, Byrne PJ, West AB, Hennessy TPJ. Experimental columnar metaplasia in the canine oesophagus. *Br J Surg* 75: 113-115, 1988
- 29) Bremner CG, Lynch VP, Ellis FH. Barrett's esophagus: Congenital or acquired? An experimental study of esophageal mucosal regeneration in the dog. *Surgery* 68: 209-216, 1970
- 30) Goetsch E. The structure of the mammalian oesophagus. *Am J Anat* 10: 1-40, 1910
- 31) Trskova-Boselova L, Meitner ER. Komparative Mikromorphologie der Speiserohre einiger Wirbeltiere. *Anat Anz* 135: 357-372, 1974
- 32) Gillen P, Keeling P, Byrne PJ, Hennessy TPJ. Barrett's oesophagus: pH profile. *Br J Surg* 74: 774-776, 1987
- 33) Attwood SEA, DeMeester TR, Bremner CG, Barlow AP, Hinder RA. Alkaline gastroesophageal reflux: Implication in the development of complications in Barrett's columnar-lined lower esophagus. *Surgery* 106: 764-770, 1989
- 34) Waring JP, Legrand J, Chinichian A, Sanowski RA. Duodenogastric reflux in patients with Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 35: 759-762, 1990
- 35) Attwood SEA, Ball CS, Barlow AP, Jenkinson L, Norris TL, Watson A. Role of intragastric and intraoesophageal alkalisation in the genesis of complications in Barrett's columnar lined lower oesophagus. *Gut* 34: 11-15, 1993
- 36) Trier JS. Morphology of the epithelium of the distal esophagus in patients with midesophageal peptic strictures. *Gastroenterol* 58: 444-461, 1970
- 37) Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Belle G, Levin K, Weinstein WM, Antonioli DA, Goldman H, Macdonald W, Owen D. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol* 19: 166-178, 1988
- 38) Miros M, Kerlin P, Walker N. Only patients with dysplasia progress to adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. *Gut* 32: 1441-1446, 1991
- 39) Hameeteman W, Tytgat GNJ, Houthoff HJ, Tweel JG. Barrett's esophagus. Development of dysplasia and adenocarcinoma. *Gastroenterol* 96: 1249-1256, 1989
- 40) Munoz N, Crespi M, Grassi A, Qing WG, Qiong S, Cai LZ. Precursor lesions of oesophageal cancer in high-risk populations in Iran and China. *Lancet* 17: 876-879, 1982
- 41) Guanrei Y, Songliang Q. Endoscopic surveys in high-risk and low-risk populations for esophageal cancer in China with special reference to precursors of esophageal cancer. *Endoscopy* 19: 91-95, 1987
- 42) Lambert R. Relative importance of biliary and pancreatic secretions in the genesis of esophagitis. *Am J Dig Dis* 7: 1026-1033, 1962
- 43) Kilivilaakso E, Fromm D, Silen W. Effect of bile salts and related compounds on isolated esophageal mucosa. *Surgery* 87: 280-285, 1980
- 44) Ushigome S, Spjut HJ, Noon GP. Extensive dysplasia and carcinoma in situ of esophageal epithelium. *Cancer* 20: 1023-1029, 1967
- 45) Mandard AM, Marnay J, Gignoux M, Segol P, Blanc L, Ollivier JM, Borel B, Mandard JC. Cancer of the esophagus and associated lesions: Detailed pathologic study of 100 esophagectomy specimens. *Hum Pathol* 15: 660-669, 1984
- 46) Dodge OG. Gastro-esophageal carcinoma of mixed histological type. *J Path Bact* 81: 450-471, 1961
- 47) Azzopardi JG, Manzi T. Primary esophageal adenocarcinoma: Confirmation of its existence by the finding of mucous gland tumours. *Br J Surg* 49: 497-506, 1979
- 48) Leiberman MD, Franceschi D, Marsan B, Burt M. Esophageal carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 108: 1138-1146, 1994
- 49) Fegelman E, Law SYK, Fok M, Lam KY, Loke SL, Ma LT, Wong J. Squamous cell carcinoma of the esophagus with mucin-secreting component. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107: 62-67, 1994
- 50) Turnbull AD, Rosen P, Goodner JT, Beattie EJ. Primary malignant tumors of the esophagus other than typical epidermoid carcinoma. *Ann Thorac Surg* 15: 463-473, 1973
- 51) Kuwano H, Ueno H, Sugimachi K, Inokuchi K, Toyoshima S, Enjoji M. Glandular or mucus-secreting components in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 56: 514-518,

1985

52) Hyams VJ, Bataskis JG, Michaels L. Tumors of the Upper Respiratory Tract and Ear. Atlas of Tumor Pathology, 2nd Series, Fascicle 25, p104-107, AFIP, Washington, 1988

53) Pascal RR, Clearfield HR. Mucoepidermoid (Adenosquamous) carcinoma arising in Barrett's esophagus. Dig Dis Sci 32: 428-432,

1987

54) Takubo K, Takai A, Yamashita K, Onda M. Carcinoma with signet ring cells of the esophagus. Acta Pathol Jpn 37: 989-995, 1987

55) Bombi JA, Riveola A, Bordas JM, Cardesa A. Adenosquamous carcinoma of the esophagus. Path Res Pract 187: 514-519, 1991

**Histogenesis of esophageal carcinoma induced by duodenal reflux in rats** Takahiro Sato, Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. J. Med Soc., **106**, 44—52 (1997)

**Key words** Barrett's esophagus, carcinogenesis, duodenal reflux, esophagus, reflux esophagitis

#### Abstract

The experiment was designed to sequentially examine esophageal carcinoma induced by duodenal reflux. Wistar male rats weighing approximately 250g were used. Having received total gastrectomy, the animals were divided into two groups; the DER, (animals received duodeno-esophageal reflux procedure with Schlatter's reconstruction) group (n=120) and the DENR (those with duodeno-esophageal non-reflux with Roux-en-Y reconstruction) group (n=100). The number of animals that survived longer than one week after surgery was 107 and 71 in the DER and the DENR group, respectively. The animals selected at random were killed every 10 weeks after surgery for 50 weeks. The number of the examined animals in the DER and the DENR group was as follows: 8 and 6, 1 week; 12 and 8, 10 weeks; 12 and 10, 20 weeks; 11 and 10, 30 weeks; 11 and 8, 40 weeks; and 16 and 11, 50 weeks after surgery, respectively. One week after surgery, erosion, regenerative thickening of mucosa and basal cell hyperplasia were recognized at lower esophagus of the DER animals. Over 10 weeks after surgery, Barrett's epithelium, erosion and squamous esophagitis including squamous dysplasia were zonally arranged from the anastomotic line to the upper esophagus in the DER group. Columnar dysplasia developed in the area of Barrett's epithelium near anastomosis in the DER group 20 weeks after surgery. Adenocarcinoma developed near anastomosis 20 weeks after surgery, and was surrounded by columnar dysplasia. The incidence of adenocarcinoma was 8%, 9%, 45% and 44% in the DER group 20, 30, 40 and 50 weeks after surgery, respectively. Adenosquamous and squamous cell carcinoma arose from the area where basal cell hyperplasia and squamous dysplasia developed. The incidence of adenosquamous carcinoma in the DER group was 9% and 13%, 40 and 50 weeks after surgery, respectively. The incidence of squamous cell carcinoma in the DER group was also 9% and 13%, 40 and 50 weeks after surgery, respectively. These data suggest two kinds of process of the esophageal carcinogenesis by duodenal reflux; one is that adenocarcinoma develops from columnar dysplasia which is originated in Barrett's epithelium, the other is that adenosquamous or squamous cell carcinoma develop from squamous esophagitis.