

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591935

研究課題名(和文)逆流性食道炎に伴う食道発癌における炎症反応制御と発癌抑制効果の関連

研究課題名(英文)The inhibitory effect of esophageal carcinogenesis associated with chronic reflux esophagitis by suppression of inflammatory response

研究代表者

尾山 勝信(Oyama, Katsunobu)

金沢大学・大学病院・助教

研究者番号：70460350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：十二指腸液食道逆流(DER)モデルと胃十二指腸混合液食道逆流(GDER)モデルを手術的に作成した。手技安定後の生存率は、DER群：63%、GDER群：58%であり、手術作成モデルとしての手技は確立された。術後40週でのバレット上皮の発現率は、DER群：71%、GDER群：83%、食道腺癌発生率は、DER群：29%、GDER群：33%であった。これまで我々が検討してきたラットモデルと比較して、発癌率は低率であり、組織学的にもおだやかな変化であった。NF- $\kappa$ B阻害剤であるパルテノライドを混餌投与したGDER群のバレット上皮発現率：69%、発癌率：15%と発現低下を認めた。

研究成果の概要(英文)：We produced the duodeno-esophageal reflux (DER) model and the gastroduodeno-esophageal reflux (GDER) model surgically. Survival rate after stabilization of surgical procedure was 63% in DER group and 58% in GDER group, respectively. The production procedure of mouse reflux esophagitis model was established. The incidence of Barrett's epithelium was 71% in DER group and 83% in GDER group, respectively. The incidence of esophageal adenocarcinoma was 29% in DER group and 33% in GDER group in 40 weeks after surgery. The oncogenic rate was low and the histological change was mild in mouse model compared with rat models we have investigated. Barrett epithelium was observed in 69% and esophageal adenocarcinoma was in 15% of mouse in the GDER group which were dietary administrated parthenolide, the NF- $\kappa$ B inhibitor. Chemopreventive effect of NF- $\kappa$ B inhibition in esophageal carcinogenesis caused by chronic inflammation was observed.

研究分野：上部消化管外科

キーワード：食道発癌 炎症発癌 マウスモデル NF- $\kappa$ B

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 逆流性食道炎からバレット上皮さらに発癌にいたる過程で、食道上皮が消化液に暴露され生ずる慢性炎症が発癌の大きな要因となっている。近年の生活様式の変化に伴い、逆流性食道炎患者の増加が問題視されている。逆流性食道炎さらにはバレット上皮を発生母地とした食道腺癌が増加傾向にあり、今後さらにその増加が加速することが予想される。食道腺癌はいったん発癌にいたるとその予後は不良であり、予防が重要と考えられる。

(2) 我々はこれまで、消化液食道逆流によるラット発癌モデルを用いた種々の検討を行ってきた。本モデルは発癌剤を用いずに自然発癌する実臨床に近いモデルと考えている。消化液逆流による食道炎-バレット化生-発癌 sequence が誘発され、経時的に発癌が増加する。

(3) ラットモデルより早期に発癌し、さらに転移をきたすマウスモデルが報告された<sup>2)</sup>が、その詳細は明らかになっていない。人間に近い遺伝子配列を有するマウスを用いた発癌モデルを確立しその機序を解明することは発癌・転移の遺伝子的機序の解明や予防・治療法の確立などにつながる。また従来モデルではみられなかった転移をきたす自然発癌モデルであり、その有用性は高いと考えられ、今回マウスを用いた実験を計画した。

(4) 慢性炎症の存在が食道発癌過程に深く関与することは明らかであり、炎症反応の中心的メディエーターである NF- $\kappa$ B は多くの細胞の遺伝子転写調節に関与する。炎症刺激により発現亢進し、免疫反応、細胞増殖、アポトーシスなど多くの生理現象に関与し、腫瘍細胞では恒常的な活性化状態にある。NF-

B は癌の発生と進展に関与している。古代より薬用ハーブとして使用されているナツシロギクより抽出した NF- $\kappa$ B 阻害剤であるパルテノライド (parthenolide) の抗腫瘍効果も検討する。

## 2. 研究の目的

(1) マウスを用いて手術的に逆流モデルを作成し、慢性炎症を背景とした食道発癌の機序を解明する。ラットに比して人間に近い遺伝子配列を有するマウスを用いたモデルを確立することにより、遺伝子的機序や薬剤効果の解明がより促進されると考えられる。さらに、転移機序やその予防・治療などの研究も含め、幅広い研究を行うことが可能になる。

(2) 消化液逆流による慢性炎症は食道癌発生のおおきな要因である。過剰な炎症反応を制御することが食道発癌の抑制につながると考えられる。炎症に関与する種々のメディエーターのなかでも中心的役割をはたす NF- $\kappa$ B 経路の関与を明らかにするとともに、その阻害による逆流性食道炎-バレット化生-発癌 sequence の抑制効果を検討する。

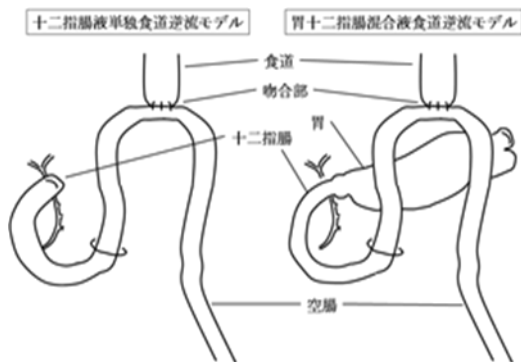
## 3. 研究の方法

### 十二指腸腸液単独食道逆流モデル

胃を全摘後、空腸を起始部から約 20mm の部位で食道の断端に端側吻合する。

### 胃十二指腸混合液食道逆流モデル

食道胃接合部を切離し、胃噴門部を縫合閉鎖した後に空腸を起始部から約 20mm の部位で食道の断端に端側吻合する。



マウスをランダムに振り分け各モデルを作成し、40 週間観察する。術後 40 週に屠殺し、食道ならびに全身臓器を摘出しホルマリン固定パラフィン包埋標本から薄切り切片を作成、病理組織学的所見（食道炎症の程度、バレット化生・食道腺癌の発生状態）を評価する。また各臓器転移の状況も検索する。

#### 4. 研究成果

(1) マウス食道逆流モデルの作成：十二指腸液食道逆流モデルと胃十二指腸混合液食道逆流モデルを手術的に作成した。当初は術後生存が困難であったが、手技の安定に伴い一定の生存率が得られるようになった。手技安定後の生存率はそれぞれ、十二指腸液食道逆流モデル：63%、胃十二指腸混合液食道逆流モデル：58%であった。手術作成モデルとしての手技は確立された。

(2) バレット上皮・食道腺癌の発生率：当初、他研究者の報告を参考として予定していた術後 20 週では、発癌を認めなかったため術後 40 週での評価を行った。術後 40 週でのバレット上皮の発現率はそれぞれ、十二指腸液食道逆流モデル：71%、胃十二指腸混合液食道逆流モデル：83%であった。また食道腺癌発生率はそれぞれ、十二指腸液食道逆流モ

デル：29%、胃十二指腸混合液食道逆流モデル：33%であった。これまで我々が検討してきたラットモデルと比較して、発癌率は低率であり、組織学的にもおだやかな変化であった。転移も認められなかった。

(3) NF- $\kappa$ B 阻害による発癌抑制：NF- $\kappa$ B 阻害剤であるパルテノリドを胃十二指腸混合液食道逆流モデルに混餌投与した。バレット上皮発現率：69%、発癌率：15%と低下を認めしたが、有意差は認められなかった。

(4) 結論：マウス食道逆流モデルは作成可能であったが、その発癌率や組織異型度はラットモデルに比して軽度であった。また、有意差はないものの NF- $\kappa$ B 阻害による発癌抑制効果が認められた。

(5) 考察：げっ歯類を用いた食道逆流発癌の抑制効果を検討するには、マウスモデルよりラットモデルが適していると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

尾山 勝信（OYAMA, Katsunobu）

金沢大学 附属病院 助教

研究者番号：70460350

### (2)研究分担者

伏田 幸夫（FUSHIDA, Sachio）

金沢大学 医学系 准教授

研究者番号：10301194

藤村 隆（FUJIMURA, Takashi）

金沢大学 医学系 准教授

研究者番号：50262580

### (3)連携研究者

なし