

宿題報告

大腸癌および残胃癌発生における胆汁酸の意義に関する研究

鳥取大学医学部第1外科
貝原 信明

STUDIES ON THE ROLE OF BILE ACIDS ON THE DEVELOPMENT OF CARCINOMA OF THE COLON AND RESIDUAL STOMACH

Nobuaki KAIBARA

First Department of Surgery, Tottori University School of Medicine

回腸切除により大腸内流入胆汁酸量を増加させたラットでは、実験大腸癌の発生が著明に増加した。このような現象はヒトでもみられるようであり、回盲部切除患者は健康者に比べて糞便中胆汁酸量が多く、大腸癌発生との関係も示唆された。大腸癌患者と健康者とでは糞便中胆汁酸量にあまり差はみられなかったが、癌患者では1次胆汁酸が多い傾向にあった。胃切除ラットに実験的に発生させた残胃癌の頻度は、胆汁を含む十二指腸液の胃内逆流が多いものほど高かった。培養細胞を用いた検討では、胆汁酸にトランスフォーメーション促進作用が認められた。以上の結果から、大腸癌および残胃癌発生には胆汁酸が関与している可能性が強く示唆された。

索引用語：大腸癌，残胃癌，胆汁酸，in vitro transformation, プロモーター

いとぐち

最近わが国においては、各種疾患の発生頻度や病態が欧米のそれに似かよってきており、悪性腫瘍の中では従来比較的少なかった大腸癌や残胃癌が増えている。多くの疫学的研究は、大腸癌の発生が環境因子とりわけ食生活に関係していることをあきらかにし、高脂肪・高蛋白食摂取による胆汁酸排泄の増加が、大腸癌発生に関与していると考えられるようになってきた^{1)~3)}。

一方、残胃癌については、通常の胃よりも残胃の方が癌発生頻度が高く、残胃の中では Billroth I 法吻合よりも Billroth II 法吻合後にその発生が多いとする欧米の報告から、胆汁の胃内逆流が癌の発生に関係しているのではないかと考えられてきた⁴⁾⁵⁾。

われわれの教室では、以前より、大腸癌および残胃癌発生における胆汁酸の意義について、実験的、臨床的検討がなされてきたので、ここではその成績をまとめて報告する。

大腸癌と胆汁酸

1. 実験大腸癌の発生と糞便中胆汁酸量⁶⁾

腸管内に排泄された胆汁酸の大部分は回腸から吸収されて肝臓に戻り、いわゆる腸肝循環を繰返しているが、回腸の外科的切除により腸肝循環が遮断されると、胆汁酸の再吸収が障害されるので、大腸に流入する胆汁酸量が増加することになる。もしも、大腸癌の発生に胆汁酸が関係しているとすれば、回腸切除による大腸内胆汁酸量の増加は、癌の発生頻度に何らかの影響を及ぼすものと考えられる。

ドンリュウラットの回腸を一部切除し、術後5週間目よりN, N'-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH) 40mg/kgを週1回宛10週間皮下投与して大腸癌の発生頻度を検索した。また、回腸切除後4, 7, 10, 12週目におのおののラットより糞便を採取して、糞便中の胆汁酸量を測定し大腸癌発生との関係を検索した。

その結果、非手術対照群ではラット1匹当たり平均1.3個の大腸癌が発生したのに対して、回腸25cm切除群では平均1.9個、回腸50cm切除群では4.8個となり、回腸切除ラットでは癌の発生頻度があきらかに増加した(図1)。一方、糞便中胆汁酸量は総胆汁酸、1次胆

※第22回日消外会総会

<1983年10月18日受理>別刷請求先：貝原 信明

〒683 米子市西町36-1 鳥取大学医学部第1外科

図1 回腸切除によるDMH誘発ラット大腸癌の発生増強

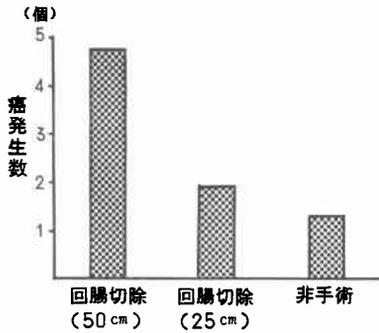


表1 回腸切除ラットの糞便中胆汁酸構成

胆汁酸	胆汁酸量(mg/日)		
	回腸切除群 (50cm)	回腸切除群 (25cm)	非手術群
ケノデオキシコール酸	—	—	—
コール酸	2.0±0.5*	1.5±0.3*	0.7±0.2
α-ムリコール酸	1.4±0.4*	1.4±0.4*	0.3±0.1
β-ムリコール酸	2.1±0.5*	1.5±0.2*	0.5±0.2
リトコール酸	8.3±2.1*	3.4±1.3*	1.7±0.4
デオキシコール酸	6.5±2.9*	4.9±1.1*	0.8±0.2
ヒオデオキシコール酸	1.4±0.3	1.1±0.4	1.3±0.3
ω-ムリコール酸	3.0±0.6*	2.4±0.6*	0.8±0.2

* p<0.01, 非手術群と比較

図2 回腸切除による糞便中胆汁酸量の増加(ラット)

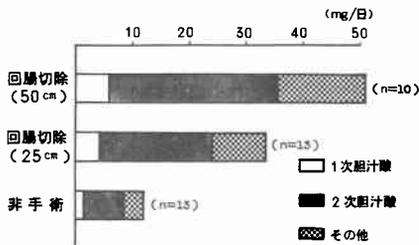
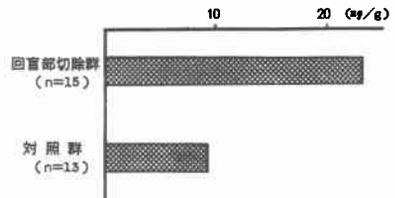


図3 回盲部切除後の糞便中総胆汁酸量



胆汁酸, 2次胆汁酸のいずれも回腸切除群の方が対照群より多く, また, 切除された回腸の長さが長いほど胆汁酸量は多いことが示された(図2).

したがって, ラットでは大腸に流入する胆汁酸量が多くなれば, 大腸癌の発生は促進されるといえるようである。

ここで問題になるのは, どのような種類の胆汁酸が大腸発癌に関係しているのかということである。これをあきらかにすることは容易ではないが, 一つの方法として, 糞便中に認められる各種胆汁酸を定量し, その量と癌発生数との関係を検討した。その結果は表1に示されるように, 1次胆汁酸のうちケノデオキシコール酸はほとんど検出されなかったが, コール酸, αおよびβ-ムリコール酸はいずれも回腸切除群で多く検出された。2次胆汁酸についても同様であり, ヒオデオキシコール酸は回腸切除群と対照群とで差はみられなかったが, リトコール酸, デオキシコール酸などはいずれも回腸切除群で有意の増加が認められた。したがって, 今回の実験からは, 特定の種類の胆汁酸の関与を示唆する結果はえられなかった。

2. 回盲部切除後ヒト糞便中胆汁酸量

ラットの回腸を一部切除すると, 糞便中胆汁酸量が

増加し, このような動物ではDMH誘発大腸癌の発生頻度が高まることを示したが, このような現象はヒトにおいてもみられるのではないかとと思われる。そこで, 回盲部切除を受け1年以上経過した患者について, 糞便中胆汁酸量を測定し健康者のそれと比較した。

その結果, 健康者では乾燥糞便1g当たりの総胆汁酸量は9.4±5.5mgであったのに対して, 回盲部切除患者では23.2±18.7mgであり, 回盲部切除後は糞便中の胆汁酸排泄量は著明に増加することが示された(図3)。

切除された回腸の長さ胆汁酸量との関係をみると, ラットの場合と同様に, ヒトにおいても切除回腸の長さが長くなるにつれて糞便中胆汁酸量が増加した(図4)。胆汁酸構成をみると, 特徴的なことは1次胆汁酸の増加である。すなわち, 総胆汁酸中に占める1次胆汁酸の割合は健康者では平均5%程度であるが, 回盲部切除を受けた患者ではパラッキはあるものの平均59%に達し, 糞便中に多量の1次胆汁酸が証明された(図5)。

以上のように, ヒトでも, 回盲部切除により胆汁酸の腸肝循環が遮断され, 大腸に流入する胆汁酸量が増加することが示されたが, このような現象ははたして

図4 切除された回腸の長さ と 糞便中胆汁酸量の関係

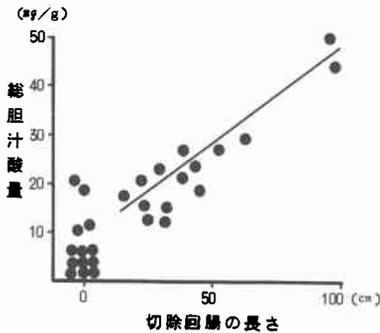


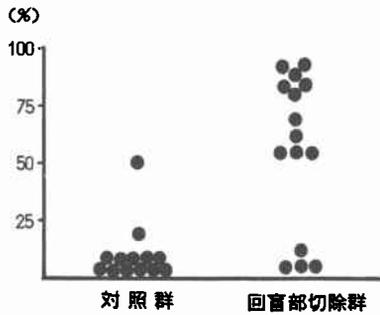
表2 異時性大腸癌の発生頻度

初回手術
 回盲部非切除……5/101(5.0%)
 回盲部切除………4/ 36(11.1%)

症 例	癌の占居部位		
	第1回手術	第2回手術	第3回手術
1. 48歳 ♂	A	S	Rb
2. 68歳 ♀	C	S	
3. 54歳 ♂	C	Rb	
4. 37歳 ♀	A	S	T

C : 盲腸 A : 上行結腸 T : 横行結腸
 S : S状結腸 Rb : 直腸

図5 総胆汁酸中に占める1次胆汁酸の割合



ヒトでも回盲部切除後は大腸癌の発生が多くなるのではないかと推測される。

3. 大腸癌患者の糞便中胆汁酸量⁷⁾

糞便中胆汁酸排泄量の増加は実験大腸癌の発生を促進し、このような現象はヒトにおいてもみられる可能性のあることをのべたが、大腸癌患者と健康者とで糞便中の胆汁酸量に差があるか否かは興味ある問題である。そこで、結腸癌10例、直腸癌5例を対象として糞便中胆汁酸量を測定し、健康者のそれと比較した。

その結果は図6に示されるように、乾燥糞便1g当たりの総胆汁酸量は結腸癌患者では平均5.22mg、直腸癌患者では4.24mgであったのに対して、健康者でも5.19mgであり、三者間にほとんど差はみられなかった。しかし、これを1次胆汁酸と2次胆汁酸に分けてみると、乾燥糞便1g当りの1次胆汁酸量は結腸癌患者で最も多く平均0.67mg、ついで直腸癌患者の0.55mg、健康者の0.27mgとなり、大腸癌患者では糞便中1次胆汁酸の増加傾向(p<0.1)が認められた。2次胆汁酸は健康者で最も多く乾燥糞便1g当たり平均4.92mg、ついで結腸癌患者の4.56mg、直腸癌患者の3.69mgであったが、これらは有意の差ではなかった。

糞便中の各種胆汁酸量をみると、1次胆汁酸のうちケノデオキシコール酸は癌患者ではすべて測定可能であり、その量も多かったが、健康者では半数の例に測定されたにすぎなかった。コール酸は癌患者、健康者ともに数例のみ検出された。2次胆汁酸としては15種類の胆汁酸が同定された。このうち、とくにリトコール酸およびデオキシコール酸に注目したが、癌患者と健康者とでその量にほとんど差はみられなかった(表3)。

したがって、日本人大腸癌患者では健康者との間に糞便中胆汁酸量にあきらかな差はみられないが、しい

大腸癌の発生を促進するの否かがつぎの問題となる。

これをあきらかにするためには、良性疾患に対する回盲部切除後の大腸癌発生頻度を検討する必要があるが、良性疾患に対する回盲部切除の機会是比较的少ないので、症例数の関係でその検討はできなかった。そこで、大腸癌術後の異時性大腸癌の発生頻度を検索した。

その結果は表2に示されるように、大腸癌手術後5年以上生存した教室の症例の中で、初回手術として左半結腸に対する手術(回盲部は温存されている)がなされた例では、異時性大腸癌の発生頻度は5%(101例中5例)であったが、初回手術時に回盲部が切除された例では11%(36例中4例)に異時性癌の発生がみられ、その頻度は後者の方が高かった。

もちろん、この結果を胆汁酸との関係だけで論じることはできない。何故ならば、回盲部切除例では直腸、S状結腸などの大腸癌好発部位が残されており、これが異時性癌の発生頻度に大きく関係していると考えられるからである。しかし、動物実験の結果を考慮すれば胆汁酸の関与も否定はできず、これらが相まって、

表3 大腸癌患者の糞便中胆汁酸構成

胆汁酸	胆汁酸量(mg/g 乾燥糞便)		
	結腸癌群 (n=10)	直腸癌群 (n=5)	対照群 (n=10)
chenodeoxycholic acid	0.56±0.49*	0.45±0.25	0.24±0.21
cholic acid	sd	sd	sd
lithocholic acid	1.02±0.32	0.57±0.20**	1.24±0.48
β-lithocholic acid	0.47±0.26	0.28±0.11**	0.69±0.32
deoxycholic acid	1.76±0.67	1.41±0.79	1.61±0.42
ursodeoxycholic acid	sd	sd	sd
3β,12α-dihydroxycholanoic acid	0.54±0.27	0.71±0.44	0.48±0.22
3β,7α-dihydroxycholanoic acid	sd	sd	sd
3β-hydroxy-12-ketocholanoic acid	0.19±0.14	0.19±0.07	0.32±0.11
3α-hydroxy-12-ketocholanoic acid	0.21±0.10*	0.12±0.05**	0.47±0.29
12α-hydroxy-3-ketocholanoic acid	0.06±0.05	0.04±0.05	0.05±0.04
3α-hydroxy-7-ketocholanoic acid	sd	sd	sd
3α-hydroxy-6-ketocholanoic acid	sd	sd	nd
7α-hydroxy-3-ketocholanoic acid	sd	sd	sd
7β-hydroxy-3-ketocholanoic acid	sd	sd	sd
3-ketocholanoic acid	sd	sd	sd
3,7-diketocholanoic acid	sd	sd	sd

sd: sometimes determined, nd: not determined.

* 対照群との間に p<0.1 **p<0.05

図6 大腸癌患者の糞便中胆汁酸量

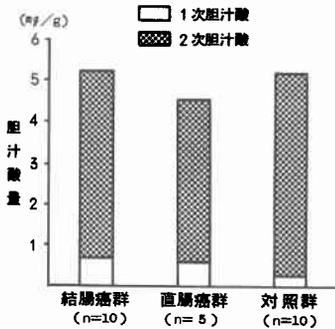
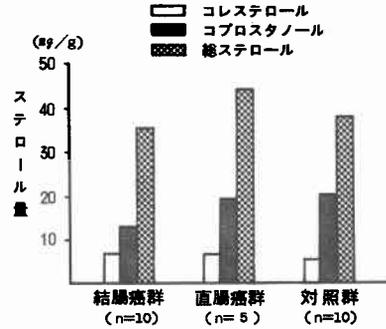


図7 大腸癌患者の糞便中中性ステロール量



ていば、癌患者で1次胆汁酸が多く検出される傾向にあり、欧米の報告にみられるような2次胆汁酸の増加は示されなかった。

糞便中に排泄された中性ステロール量については、大腸癌患者と健康者とで全く差はみられなかった。すなわち、乾燥糞便1g当たりの総ステロール量は健康者では平均37.6mgであったのに対して、結腸癌患者では35.2mg、直腸癌患者では43.9mgであり、三者間に差はなかった。コプロスタノール、コレステコールについても同様であった(図7)。

以上要するに、大腸発癌には胆汁酸がかなり関係し

ているのではないかということを示したが、具体的にどのように、いかなる種類の胆汁酸が関与しているのかについては全く不明といってよい。現在のところわれわれは、大腸発癌のプロモーターとして2次胆汁酸のみならず1次胆汁酸も関与しているのではないかと考えている。

残胃癌と胆汁酸⁹⁾

胆汁を含む十二指腸液の胃内逆流の多寡が残胃癌の発生に関係するのではないかということは、以前から指摘されている。教室では、ラットに胃切除を施した後、発癌剤を投与して実験的に残胃癌を発生させ、こ

図8 発癌実験群

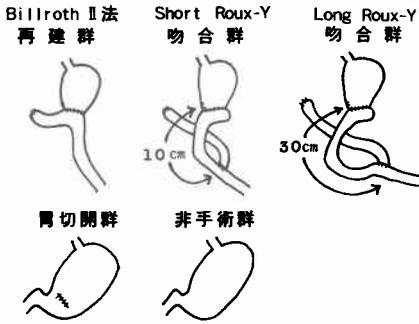


表4 MNNG誘発実験残胃癌の発生頻度および発生部位

	発生頻度	発生部位
Billroth II法再建群	38.9%(7/18)*	吻合部小弯側
Short Roux-Y吻合群	25.0%(5/20)	〃
Long Roux-Y吻合群	7.1%(1/14)	〃
胃切開群	15.0%(3/20)	腺胃小弯側
非手術群	9.5%(2/21)	〃

* 非手術群および Long Roux-Y 吻合群と比較し推計学的有意差あり(p<0.05)

の問題を解明するためのいとぐちを得ようと試みた。

ウイスター系雄性ラットの腺胃1/2切除後各種術式によって消化管を再建し、図8に示すような実験群を設定した。すなわち、① ヒトの Treitz 靱帯に相当すると思われる部位より4cm 肛門側の空腸と残胃とを吻合した群 (Billroth II 法再建群)、② Treitz 靱帯に相当すると思われる部位より4cm 肛門部において空腸を切離して肛門側空腸と残胃を吻合し、吻合口より10cm 肛門側において空腸・空腸吻合を行った群 (short Roux-Y 吻合群)、③ 上述のように胃空腸吻合を行った後、吻合口より30cm 肛門側において空腸・空腸吻合を行った群 (long Roux-Y 吻合群)、④ 腺胃中央前壁を1cm 切開し縫合閉鎖した群 (胃切開群)、⑤ 非手術対照群をおいた。

術後1カ月目より N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 120 μ g/ml+0.4% tween 60) を飲料水として6カ月間投与し、発癌剤中止後2カ月目に動物を屠殺して胃癌の発生頻度を比較した。

その結果、非手術群では9.5%、胃切開群では15%の頻度で胃癌が発生したのに対して、胃切除後 Billroth II 法再建群では38.9%、short Roux-Y 吻合群では25%の頻度で残胃癌の発生がみられ、いずれも胃腸吻合部小弯側に認められた。一方、long Roux-Y 吻合群においても吻合部に接して残胃癌が発生したが、その頻度は7.1%と低率であった (表4)。

以上の結果は、Billroth II 法群は対照群に比べて胃癌の発生が多く、胃切除群の中では Billroth II 法群の方が long Roux-Y 群よりも発癌頻度が高いことを示している。したがって、胃切除ラットでは胆汁を含む十二指腸液の胃内逆流が多いものほど、残胃癌が発生しやすいと考えられる。

つぎに、非癌部胃粘膜の変化を組織学的に検索した。胃切除ラットでは主として胃腸吻合部胃粘膜を、非手

表5 びらん及び萎縮性胃炎の発生頻度

	発癌ラット	非発癌ラット	計
Billroth II 法再建群	6/7	1/11	7/18(39%)
Short Roux-Y 吻合群	5/5	3/15	8/20(40%)
Long Roux-Y 吻合群	0/1	3/13	3/14(21%)
胃切開群	2/3	3/17	5/20(25%)
非手術群	2/2	5/19	7/21(33%)
計	15/18(83%)	15/75(20%)	

術ラットでは腺胃小弯側胃粘膜を調べた。また、胃切開を加えただけのラットでは、切開部を中心とした胃粘膜についても検討した。その結果、癌が発生したラットでは癌巣周辺胃粘膜にびらんや萎縮性胃炎が高頻度にみられたのに対して、胃癌の発生がみられなかったラットではそのような所見は少なかった (表5)。

これを術式別にみると、Billroth II 法再建群および short Roux-Y 吻合群でびらん萎縮性胃炎の発生頻度が高く、これは胆汁を含む十二指腸液の胃内逆流の多寡に関係しているのではないかと考えられた。

つぎに、ヒト残胃癌について臨床病理学的検索結果をのべる。教室で経験された残胃癌のうち、初回良性疾患に対する胃切除後10年以上経過して発見された残胃癌は11例であるが、その発生部位をみると、大部分は胃腸吻合部あるいはそれに接した部位であり、残胃癌はヒトにおいても吻合部に多いことが示されている⁹⁾。

癌の進行度は、結腸、膵、肝などの隣接臓器に直接浸潤したもの、腹腔播種あるいは肝転移をとともうものなど高度進行癌が多く、11例中9例は stage IV 胃癌であった。したがって、残胃癌切除がなされたのは7例

表6 教室で経験された残胃癌症例

	年齢・性	初回手術		残胃癌		転 帰
		疾患名	手術々式	発生間隔	発生部位	
切除例	58♂	十二指腸潰瘍	B-II法	29年	吻合部 胃体部	8年10月生
	48♂	〃	〃	14年	胃底部	5年9月生
	54♂	〃	〃	22年	吻合部	10月死
	54♂	胃潰瘍	〃	22年	〃	3年10月生
	58♂	〃	〃	25年	〃	1年7月死
	69♀	胃ポリープ	B-I法	17年	〃	1月死
	67♀	胃下垂	胃分節切除	20年	〃	1年 死
非切除例	69♂	十二指腸潰瘍	B-II法	37年	〃	1年3月死
	66♂	〃	〃	25年	〃	1月死
	72♂	胃潰瘍	〃	24年	〃	2月死
	75♀	胃ポリープ	B-I法	17年	胃体部	4月死

しかなく、その治療成績は多くは不良であるが、横行結腸浸潤をとまう進行癌に対して結腸合併切除を行うことにより術後8年10カ月の現在生存中の症例、あるいは、肝浸潤に対する肝合併切除後5年9カ月生存例も経験された。

非癌部胃粘膜の組織学的検索は残胃が切除された7例についてなされたが、6例では慢性萎縮性胃炎あるいはびらん性胃炎の像が認められ、動物実験においてみられたと同様の所見が示された(表6)。

以上、ラットのMNNG誘発実験残胃癌とヒト残胃癌について、その発生頻度、発生部位あるいは背景粘膜の所見などを検討した結果、残胃癌には十二指腸液の胃内逆流が関与し、胆汁酸がその主体を担っているのではないかと推測された。しかし、これはあくまでも状況証拠にもとづくものであり、科学的根拠はきわめて乏しいので、今後のさらなる研究が必要である。

in vitro transformation と胆汁酸

大腸、肝、残胃などにおいて、胆汁酸が発癌のプロモーターになることを示唆する研究は多いが、その直接的証拠はまだえられていない。教室では、培養細胞の癌化(transformation)に対する胆汁酸の影響について一連の実験がなされてきたのでその結果をのべ、発癌のプロモーターとしての胆汁酸の意義をあらかじめにしたい。

実験に用いた細胞は、C₃Hマウス胎児由来の線維芽細胞(10T 1/2 clone 8)であり、これを10%ウシ胎児血清加Dulbecco's modified eagle mediumにて培養した。

予備実験として、胆汁酸の毒性を検討する目的で、

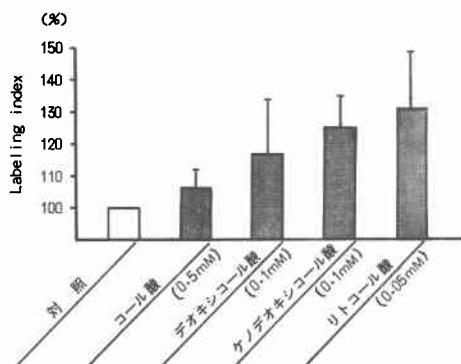
表7 胆汁酸添加によるC₃H 10T 1/2細胞の増殖促進(直径5mm以上コロニーの出現頻度)

	胆汁酸濃度(mM)			
	0	0.05	0.1	0.5
コール酸		5.9%	8.0%	21.4%
ケノデオキシコール酸		21.8%	47.4%	—
デオキシコール酸		4.6%	11.3%	—
リトコール酸		40.6%	36.3%	—
対 照	7.1%			

各種濃度の胆汁酸を添加した培地に細胞200個をまき、培養開始後10日目にcloning efficiencyをもとめた。その結果、ケノデオキシコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸では0.15~0.2mMの濃度で毒性が出現し、cloning efficiencyは急激に低下したが、それ以下の濃度では細胞の生存率はきわめて良好であった。コール酸は細胞毒性がやや弱く、cloning efficiencyの低下は1mM以上の濃度において認められた。この実験において興味あることは、胆汁酸添加培養群では対照に比べて大きなコロニーが出現したことである。すなわち、胆汁酸非添加の場合には、培養開始後10日目では直径5mm以上のコロニーは7%程度にしかみられなかったが、胆汁酸添加の場合には、コール酸では0.5mMの濃度で21%、ケノデオキシコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸では0.05~0.1mMの濃度でその出現頻度は11~47%に増加した(表7)。

そこで、このようなin vitro細胞増殖に及ぼす胆汁酸の作用を、³H-thymidineのとり込み率によって検討した。細胞5×10⁴個を6時間培養し、その後胆汁酸を

図9 胆汁酸添加によるC₃H 10T 1/2細胞の増殖促進



添加してさらに14時間培養し、ついで³H-thymidineを1時間作用させてオートラジオグラムを作成し、labeling indexをもとめて対照と比較した。その結果、胆汁酸添加群はいずれの場合も対照に比べて高値を示し(図9)、一定の条件下では胆汁酸に細胞分裂速度を早める作用のあることが示された。

以上の予備実験結果をもとに、細胞のin vitro transformationに対する胆汁酸の影響を検討した。

実験1では、発癌剤を作用させた後に胆汁酸を作用させてtransformed colonyの出現頻度を胆汁酸非添加対照群と比較した。すなわち、 1×10^4 個の細胞をシャーレにまき、培養開始24時間後にMNNG $2 \mu\text{g}/\text{ml}$

を添加して24時間培養し、その後培地を交換して48時間培養を続け、しかる後に胆汁酸を添加して3週間培養した。その後は通常の培地にてさらに17日間培養し、出現したtransformed colonyの数をもとめた。添加した胆汁酸の種類および濃度は、コール酸0.5mM、ケノデオキシコール酸およびデオキシコール酸0.1mM、リトコール酸0.05mMとした。

実験2では、発癌剤と胆汁酸の作用順序を実験1の逆にした。すなわち、細胞 1×10^4 個を胆汁酸添加培地にて3週間培養し、これをreplating (1×10^4 個)して24時間後にMNNGを24時間作用させた。その後は通常の培地にて40日間培養を続けtransformed colonyの出現頻度を対照と比較した。当然のことながら、発癌剤を作用させてから実験終了までの期間は実験1と同じである。

生じたコロニーは3型にわけられた。1型は細胞のpile-upがあまりみられないもの、2型はpile-upはみられるがcriss-crossはあきらかでないもの、3型は両者とも著明で好塩基性に濃染されるものであり本実験では3型のみをtransformed colonyと判定した(図10)。

その結果、はじめにMNNGを作用させ、その後胆汁酸を作用させた場合にはtransformationのあきらかな促進が認められた。すなわち、MNNG、胆汁酸ともに非添加の場合、あるいは、胆汁酸だけ添加した場合にはtransformed colonyの出現は全くみられず、

図10 MNNG添加により生じたコロニー
左: type II, 右: type III transformed colony

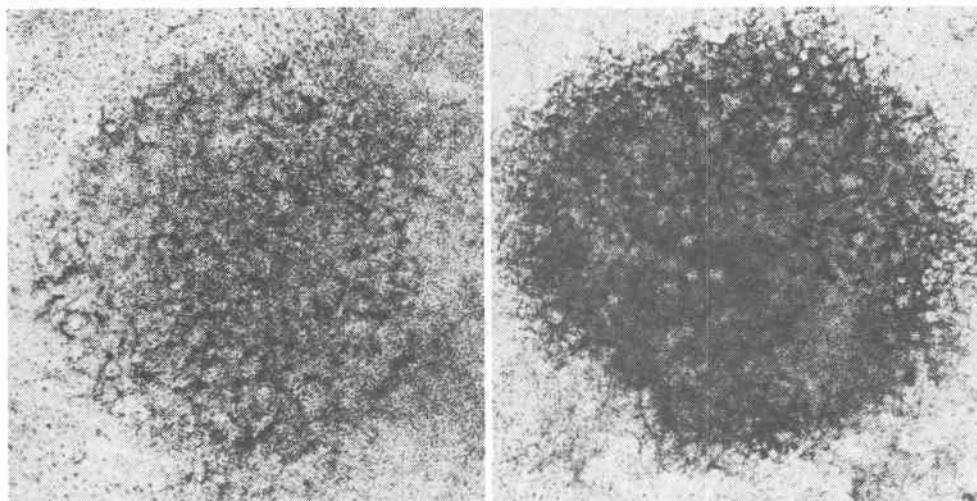


表8 in vitro transformation に対する胆汁酸の影響

	シャーレ当たりの3型コロニー数
対 照	0
MNNG 単独	0.6±0.6
CDCA	1.3±1.1*
CA	1.1±0.9*
MNNG+DCA	1.3±0.9*
LCA	1.2±0.7*

CDCA: ケノデオキシコール酸 CA: コール酸

DCA: デオキシコール酸 LCA: リトコール酸

* p<0.05

表9 in vitro transformation に対する胆汁酸の影響

	シャーレ当たりの3型コロニー数
対 照	0
MNNG 単独	0.4
CDCA	0.4
CA +MNNG	0.5
DCA	0.5
LCA	0.4

CDCA: ケノデオキシコール酸 CA: コール酸

DCA: デオキシコール酸 LCA: リトコール酸

MNNG 単独の場合にはシャーレ当たり平均0.6個の3型コロニーが認められた。これに対して、MNNG+胆汁酸の場合にはtransformed colonyの出現頻度はMNNG 単独の場合の2倍に増加した。またこのようなtransformationの促進は1次胆汁酸、2次胆汁酸ともに認められた(表8)。

一方、はじめに胆汁酸を作用させ、その後MNNGを作用された実験2では、MNNG 単独の場合と、胆汁酸+MNNGの場合とでtransformed colonyの出現頻度に全く差がみられなかった(表9)。今回の実験でtransformed colonyと判定した3型コロニーからえられた細胞をC₃Hマウス皮下に移植したところ、あきらかな腫瘍形成が認められ、戻し移植実験によってもtransformed colonyと判定された(図11)。

以上のことから、胆汁酸には化学発癌のプロモーターとしての作用のあることがあきらかとなった。今回の実験は線維芽細胞を用いて行われたものであるから、大腸癌や残胃癌発生における胆汁酸の関与を直接的に示すものではないが、従来傍証があるにすぎなかった胆汁酸のプロモーター作用をin vitro実験系を

図11 in vitro transformed cellsの移植による腫瘍形成



用いて示したことの意義は大きいと思われる。

考 察

大腸癌の発生に胆汁酸が関係していることを示唆する報告は多い。ラットにcholestyramineを投与して大腸に流入する胆汁酸量を増加させたり¹⁰⁾、corn oil¹¹⁾、beef fat¹²⁾などの高脂肪食を投与して胆汁酸分泌を亢進させると、DMHやMNNGによる実験大腸癌の発生が促進され、なかでもデオキシコール酸、リトコール酸などの2次胆汁酸にその作用があると考えられている¹³⁾。

ヒトについても同様であり、Hillら¹⁴⁾¹⁵⁾の報告によれば、大腸癌のhigh-risk populationはlow-risk populationに比べて脂肪や牛肉の摂取量が多いため、糞便中に排泄される胆汁酸量が増加しており、このような現象と大腸癌発生との関係が注目されてきた。さらに、大腸癌の多い欧米人の腸内細菌には、1次胆汁酸を2次胆汁酸に変換させる菌が多いとされ¹⁶⁾、このことから、2次胆汁酸が大腸発癌促進因子ではないかと推測されている。

われわれは、回腸切除ラットを用いて、大腸発癌と糞便中胆汁酸量との関係を検討したが、この場合には総胆汁酸の増加が重要であり、特定の種類の胆汁酸との関係は指摘できなかった。このことは、大腸発癌における2次胆汁酸の関与を否定するものではないが、同時に1次胆汁酸の関与を否定するものでもない。今後は1次胆汁酸についても詳細に検討することが必要であろう。

ヒトの回盲部切除後に糞便中胆汁酸量が増加することは、大腸発癌との関連において興味ある問題である。このような環境下で大腸癌の発生が増えるか否かを示

す証拠は今のところないが、動物実験の結果から、その可能性はありうろと思われる。とくに、ヒト回盲部切除後は糞便中1次胆汁酸の増加が著明であり、1次胆汁酸が発癌のプロモーターになるとすれば、回盲部切除患者では発癌の natural experiment が行われているとも考えられ興味もたれる。

ところで、大腸癌患者と健康者とで糞便中の胆汁酸量に差があるか否かについては、差があるという報告¹⁷⁾¹⁸⁾と差がないという報告¹⁹⁾²⁰⁾があって、いまだ意見の一致はみられていない。

われわれの成績では、大腸癌患者と健康者とで胆汁酸量にほとんど差はみられなかったが、胆汁酸構成には若干差がみられ、癌患者で1次胆汁酸が多く検出される傾向にあった。もちろん、この結果に問題がないわけではない。今回の報告では、乾燥糞便1g当たりの胆汁酸量を示したが、1日の排便量は食餌内容によりかなりの差があるので²¹⁾、それを考慮すれば、癌患者と健康者とでは1日に排泄される胆汁酸量に差があるかもしれない。

残胃癌の発生に胆汁の胃内逆流が関係しているのではないかということは古くから指摘されてきたが、今回示したわれわれのラット残胃癌発生実験では、このことはきわめてあきらかである。すなわち、Billroth II 法吻合群は胃癌発生率が最も高く、胆汁の胃内逆流が比較的少ないと思われる short Roux-Y 吻合群では発癌率がやや低下し、それをさらに少なくするように工夫した long Roux-Y 吻合群では、癌の発生頻度がさらに低下するという結果が示されている。

胆汁の胃内逆流がどのような形で残胃癌の発生に関与しているかは推測の域を出ない。

第1は、びらん、萎縮性胃炎発生との関連である。ラット実験胃癌発生課程を詳しく検索した齊藤ら²²⁾の報告によれば、びらん、萎縮性胃炎とはいえないまでも、癌の先行病変として意義あるものとみなされている。われわれの実験でも、残胃に癌が発生したラットでは、非癌部胃粘膜にびらん、萎縮性胃炎が高率にみられ、残胃癌との関連が注目されたが、これに胆汁酸が関与している可能性は十分に考えられる。

第2は、胆汁酸の発癌促進作用である。すでにのべたように、大腸癌ではそれを示唆する証拠は多いので、残胃癌でもその可能性を否定することは出来ない。ただ、残胃癌の発生において胆汁酸がプロモーターになるとすれば、それは主として1次胆汁酸ということになるので、1次胆汁酸にはたして発癌のプロモーター

作用があるか否かが問題になる。

そこで、われわれは培養細胞を用いて各種胆汁酸のトランスフォーメーション促進作用を検討した。

化学発癌の2階段説においてはプロモーターが必要であり、胆汁酸はその一つとされているが、その根拠はすべて in vivo 実験系によって示されたものであり、より単純な系としての in vitro 実験によるものはあまりない。Friedman²³⁾は、ヒト大腸腺腫細胞を培養し、これに胆汁酸を作用させると生じるコロニーが大きくなることを見出し、胆汁酸が大腸癌の発生に促進的に働く可能性のあることを in vitro 実験系にて示した。われわれは、マウス線維芽細胞の MNNG によるトランスフォーメーションが胆汁酸により促進されることを示したが、この場合には、発癌剤が作用した後胆汁酸が作用することが重要であり、この順序が逆になると胆汁酸の影響は全くみられなかった。したがって、胆汁酸は発癌のプロモーターであるといえる。また、このような作用は1次胆汁酸、2次胆汁酸とも同程度に認められた。

以上のことを総合して考えると、大腸癌や残胃癌の発生においては、その促進因子として胆汁酸が作用している可能性は高いといえる。今後はそれをより直接的に証明するための実験的ならびに臨床的検討が望まれる。

むすび

大腸癌および残胃癌発生における胆汁酸のプロモーターとしての関与の可能性について、教室でえられた実験成績ならびに臨床的検討結果を中心に報告した。この問題については推論の積重ね的な面が多いが、可能性は十分にありうるので、今後の研究成果が期待される。

終りに、宿題報告の機会を与えられた日本消化器外科学会々長、白鳥常男教授に深甚なる謝意を表すとともに、本研究を指導された古賀成昌教授ならびに共同研究者各位に感謝する。

文 献

- 1) Wynder EL, Shigematsu T: Environmental factors of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 20: 1520—1561, 1967
- 2) Doll R: The geographic distribution of cancer. *Br J Cancer* 23: 1—8, 1969
- 3) Haenszel W, Berg JW, Segi M et al: Large bowel cancer in Hawaiian Japanese. *J Natl Cancer Inst* 51: 1765—1779, 1973
- 4) Helsing N, Hillestad L: Cancer develop-

- ment in the gastric stump after partial gastrectomy for ulcer. *Ann Surg* 143 : 173—179, 1956
- 5) Nicholls JC: Carcinoma of the stomach following partial gastrectomy for benign lesions. *Br J Surg* 61 : 244—249, 1974
 - 6) Koga S, Kaibara N, Takeda R: Effect of bile acids on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Cancer* 50 : 543—547, 1982
 - 7) Kaibara N, Sasaki T, Ikeguchi M et al: Fecal bile acids and neutral sterols in Japanese with large bowel carcinoma. *Oncology* 40 : 255—258, 1983
 - 8) 西土井英昭: MNNG 投与によるラット残胃癌発生に関する実験的研究. *日外会誌* 83 : 1218—1227, 1982
 - 9) 貝原信明, 西土井英昭, 古賀成昌ほか: 残胃癌発生に関する実験的ならびに臨床的検討. *胃と腸* 17 : 1359—1364, 1982
 - 10) Nigro ND, Bhadrachari N, Chomchai C: A rat model for studying colonic cancer: Effect of cholestyramine on induced tumors. *Dis Colon Rec* 16 : 438—443, 1973
 - 11) Reddy BS, Weisburger JH, Wynder EL: Effect of dietary fat level and dimethylhydrazine on fecal acid and neutral sterol excretion and colon carcinogenesis in rat. *J Natl Cancer Inst* 52 : 507—508, 1974
 - 12) Nigro ND, Singh DV, Campbell RL et al: Effect of dietary beef fat on intestinal tumor formation by azoxymethane in rats. *J Natl Cancer Inst* 54 : 439—442, 1975
 - 13) Narisawa T, Magadia NE, Weisburger JH et al: Promoting effect of bile acid on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of MNNG in rats. *J Natl Cancer Inst* 55 : 1093—1097, 1974
 - 14) Hill MJ: The effect of some factors on the faecal concentration of acid steroids, neutral steroids and urobilins. *J Pathol* 104 : 239—245, 1971
 - 15) Hill MJ, Aries VC: Faecal steroid composition and its relationship to cancer of the large bowel. *J Pathol* 104 : 129—139, 1971
 - 16) Aries VC, Crowther JS, Drasar BS et al: Bacteria and aetiology of cancer of the large bowel. *Gut* 10 : 334—335, 1969
 - 17) Hill MJ, Drasar BS, Williams REO: Fecal bile acids and clostridia in patients with cancer of the large bowel. *Lancet* I : 535—539, 1975
 - 18) Reddy BS, Wynder EL: Metabolic epidemiology of colon cancer: Fecal bile acids and neutral sterols in colon cancer patients and patients with adenomatous polyp. *Cancer* 39 : 2533—2539, 1977
 - 19) Mudd DG, McKelvey STD, Norwood W et al: Carcinoma of the large bowel and faecal bile acid (Abstr). *Br J Surg* 66 : 355, 1979
 - 20) Murray WR, Blackwood A, Calman KC et al: Faecal bile acids and clostridia in the aetiology of colorectal cancer (Abstr). *Br J Surg* 66 : 364, 1977
 - 21) Reddy BS, Hedges AR, Laakso K et al: Metabolic epidemiology of large bowel cancer: Fecal bulk and constituents of high-risk North American and low-risk Finnish population. *Cancer* 42 : 2832—2838, 1978
 - 22) 齊藤實生, 佐々木攻, 松口幸邦ほか: 実験胃癌モデルの臨床応用とその貢献. *胃と腸* 16 : 727—736, 1981
 - 23) Friedman EA: Differential response of premalignant epithelial cell classes to phorbol ester tumor promoters and to deoxycholic acid. *Cancer Res* 41 : 4588—4599, 1981