

ラットの結腸間移植回腸における DMH 発癌

近畿大学第1外科

安富 正幸 松田 泰次 小川 雅昭 丸山 次郎
坂田 育弘 黒岡 一仁 桂 康博 岩佐 善二

DMH INDUCED CANCER OF RAT IN THE ILEUM TRANSPOSED INTO THE COLON

Masayuki YASUTOMI, Taiji MATSUDA, Masaaki OGAWA,
Jiro MARUYAMA, Ikuhiro SAKATA, Kazuyoshi KUROOKA,
Yasuhiro KATSURA and Zenji IWASA

1st Department of Surgery Kinki University School of Medicine

SD ラットの回腸を結腸間に有茎移植術を行ったのち, 1, 2-dimethylhydrazine (DMH) 10mg/kg×16週を投与し, 大腸発癌の促進因子を解明しようとした。

手術の影響を除外し, 回腸上皮の結腸化の可能性を検討するために, DMH 投与開始時期を術後2週と16週に分けた。術後2週の群, 16週の群ともにそれぞれ9.5%, 6.5%の頻度で結腸間に移植した回腸に発癌した。しかし対照群および移植群でも正常回腸には癌は認められなかった。このことから, 本来回腸には DMH 発癌に抵抗性であるが, 結腸間移植により発癌すること, 術後早期投与群では手術による促進作用, 晚期投与群では回腸粘膜の変化による発癌促進があることが推察された。

索引用語: S-D ラット, DMH 発癌, 結腸間回腸移植, 大腸腫瘍

I. 序 文

最近, ヒト大腸癌のモデルとして dimethylhydrazine (DMH) とその誘導体である azoxymethane (AOM) による多数の発癌実験が報告されている。とくに DMH は安定な物質で取扱いが容易なことのほか, ラットやマウスに皮下投与により極めて高率にしかも特異的に大腸癌が発生すること, 発生した大腸癌が組織学的にヒト大腸癌に類似していることなどの特徴があり, 胆汁酸, 食餌内容, 腸内細菌などの発癌におよぼす因子の解析や大腸癌治療のモデルとして利用されている。DMH 発癌はヒト大腸癌と同様に大腸に高率に発生するが, 小腸にはほとんど発生しない。この臓器特異性の解明のために Gennaro (1973)¹⁾, Celik (1981)²⁾は小腸の結腸間移植術と結腸の小腸間移植術を行った後に AOM または DMH による発癌実験を行っている。彼らは結腸間に移植した小腸には発癌しないが, 小腸間に移植した結腸には発癌することから,

小腸粘膜自体は上述の発癌剤に抵抗性があるのに対し, 結腸粘膜は感受性があると結論している。これに対し, 小川ら³⁾はほとんど同様の手術後に DMH を投与し, 結腸間に移植した小腸にも結腸と同様に発癌すると報告しており, Gennaro¹⁾や Celik²⁾とは全く逆の結論を出している。注意しなければならないことは腸管の切除や吻合などの外科手術は発癌に種々の影響を与える。したがって手術後十分な時間が経って, 手術の影響がなくなってから発癌剤を投与しなければ発癌性の比較はできない。ところが長時間経過すると移植された腸上皮の性格に変化がおり, その結果発癌頻度が変化する可能性がある。そこで著者らは回腸を結腸間に移植し, 手術後2週間で DMH を投与した早期投与群と16週経過した後に投与した晚期投与群を作成し小腸発癌を比較した。その結果, 結腸ほど高率でないが両群とも小腸に発癌させることができた。早期投与群は手術による腸上皮の機械的損傷が発癌を促進し, 晚期投与群は小腸上皮の変化によることが証明された。

<1985年5月15日受理> 別刷請求先: 安富正幸
〒589 南河内郡狭山町西山380 近畿大学医学部第1外科

与量では著しく低率の発癌のはずである。実際に本実験における結腸の発癌率は低率であった。吻合線上に高率に腫瘍が発生したことは手術による粘膜損傷により発癌が促進されたためであろう。しかし同じ吻合部でも結腸、回腸吻合は回腸、回腸吻合部に比べ著しく高率であることは腸吻合部の発癌促進的な要因があることが示された。また、正常回腸には発癌しなかったが移植回腸には発癌した。ただし移植回腸に発生した癌、腺腫とも結腸および腸吻合部のそれらより小型であり、組織学的にも軽度浸潤であった。腸吻合部に多数の腫瘍が発生した理由について、Williamson⁹⁾は腸吻合部では粘膜の欠損と修復が繰り返され、DNA合成が亢進しており、これが発癌に対し促進的に作用すると述べている。

Pozharisski⁹⁾, Furuya⁹⁾らは実験的に結腸壁を結紮し、また Hagihara⁷⁾は酢酸を注腸し、粘膜に非特異的な慢性潰瘍を作成することにより、発癌が促進されることを示し、その理由としてこの潰瘍周囲の粘膜の³H-thymidineによる microautoradiography における標識率が上昇することを報告している。本研究における吻合部発癌の亢進はこれらの機序と同一であろう。Gennaro¹⁾の研究は azoxymethane 発癌であり、我々の研究と抗癌剤が異っている。また結腸間に移植した小腸には癌ができなかったと述べているが、Gennaroの研究ではそれぞれの実験群がわずかに9匹のラットにすぎない。Celik²⁾も同様な実験の後に回腸に発癌しなかったと結論しているが彼の研究では手術後10~12日後に DMH を開始しており、手術が発癌におよぼす影響を除外していない。

本研究では上述の手術による影響を除外するために手術後16週経過したラットに DMH を投与した。この晩期投与群では吻合部の腫瘍発生率は明らかに低下した。腸吻合部の発癌率も低下したが依然として高率である。しかし、特に注目すべきことは移植回腸には癌も腺腫もいずれも発生したことである。発癌頻度を腸管粘膜の面積当りで算定すると、癌は移植回腸が大腸よりも高率ということになる。結腸間移植回腸の面積あたりの腺腫あるいは癌の発生率を100とした時の消化管各部位の腫瘍発生率を調べた。早期投与群の大腸で腺腫が128、癌が64であり、晩期投与群の大腸でも腺腫145、癌29であって、単位面積当りの腺腫の発生率は大腸と移植回腸はほぼ同率、発癌率では移植回腸は正常大腸や対照群の大腸よりも高率であった。しかし、これは面積当りの計算であって、結腸間移植回腸に発

生した腫瘍はいずれも小さく、浸潤も軽度であった。このことは回腸上皮は発癌抵抗性があるということを示唆している。

いずれにしても正常回腸にはほとんど発癌しないのに、移植回腸上皮の腫瘍発生率が増加する理由を明らかにするために、著者らは別の実験系で DMH 非投与の有茎移植回腸上皮の変化を調べた。

それによると、結腸間に移植した回腸粘膜の絨毛と腺窩を形成する細胞数が著しく増加することが判った。正常回腸の絨毛を形成する上皮細胞数の平均は 4.6 ± 3.1 で非手術群と偽手術群では6週、12週、18週でも差がなかった。これに対し結腸間に移植した回腸上皮は6週で 6.6 ± 7.9 増加し、12週と18週でも同様に有意に増加していた。同様に腺窩を形成する細胞数も対照群に比べ、結腸間移植回腸では1.4倍と著明に増加していた。このように細胞数が増加する原因を検討するため、³H-thymidine による microautoradiography により腺窩上皮の標識率を調べた。正常が19.1%であるのに対し、移植回腸では27.6~30.8%と上昇していた。また germinal zone は正常では crypt の深部1/2であるが、表層近くまでの拡大が認められた。これらの腺窩上皮の標識率の上昇と germinal zone の拡大は過形成を示す所見であり、Lipkin の発癌過程⁹⁾の phase I に相当し、発癌促進的な変化である。このほか、粘液組織化学を行うと、正常の回腸上皮や対照群では sulfomucin の染色である HID 染色が陽性であるのに対し、結腸間移植回腸は alcian blue 染色が陽性となり粘液が sialomucin に変わったことを示している。sulfomucin から sialomucin への変化は Filipe⁹⁾¹⁰⁾の transitional mucosa に見られる変化であって、彼は前癌性変化であると指摘している。このような移植回腸粘膜の変化は腸内細菌叢の変化による可能性がある。そこで腸内細菌叢について検討した⁴⁾。移植回腸では正常回腸あるいは偽手術の回腸に比べ、好気性菌、嫌気性菌ともに 10^2 以上の腸内細菌数の増加を示した。腸内細菌の変化が回腸上皮の cell cycle を変え過形成とするとともに粘液の性状をも変えて発癌促進的に作用すると考えられた。

結 語

SD ラットの回腸を結腸間に有茎移植を行ったのち、1,2 dimethylhydrazine (DMH) 10mg/kg を16週間投与し、以下の成績を得た。

1. 発癌率を各実験群でみると、早期投与群、晩期投与群とともに、回腸移植術群はそれぞれ57.1%、

29.0%, 偽手術群は13.3%, 47.2%であり, 非手術群の7.7%, 13.3%に比べ手術群に高率に発癌する。

2. 回腸移植術群では, 早期投与群の発癌率は結腸吻合部で24%と最も多く, 次いで結腸(19.0%)が多いが移植回腸にも9.5%にみられた。晚期投与群の発癌率は結腸吻合部に16.1%と最も多く, 次いで結腸であったが移植回腸にも6.5%に発癌した。しかし対照群および移植群の正常回腸には癌は認められなかった。

3. 結腸間移植回腸に発生した癌は吻合部や大腸に発生したもの比べ, 肉眼的に小型で癌浸潤の程度も軽度であった。

本研究は, 文部省科学研究費58570551, 58570524による。

文 献

- 1) Gennaro AR, Villanueva R, Sukonthaman Y et al: Chemical carcinogenesis in transposed intestinal segments. *Cancer Res* 33 : 536-541, 1973
- 2) Celik C, Mittelman A, Paolini NS et al: Effects of 1,2-symmetrical dimethylhydrazine on jejunocolonic transposition in Sprague-Dawley rats. *Cancer Res* 41 : 2908-2911, 1981
- 3) 小川雅昭, 桂 康博, 安富正幸ほか: DMH 腸発癌におよぼす腸内細菌叢の影響に関する研究 (1) —腸手術の発癌に及ぼす影響, とくに腸内細菌量との関係について—. *近畿大医誌* 8 : 23-38,

1983

- 4) Williamson RCN, Bauer FLR, Terpstra OT et al: Contrasting effects of subtotal enteric bypass, enterectomy, and colectomy on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis. *Cancer Res* 40 : 538-543, 1980
- 5) Pozharisski KM: The significance of nonspecific injury for colon carcinogenesis in rats. *Cancer Res* 35 : 3824-3830, 1975
- 6) Furuya K, Izumi K, Kumagai H et al: Effects of colonic ligation on the carcinogenesis by 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride in BALB/c mice. *Tokushima J Exp Med* 28 : 27-31, 1981
- 7) Hagihara PH: Experimental colitis as a promoter in large-bowel tumorigenesis. *Arch Surg* 117 : 1304-1307, 1982
- 8) Lipkin M: Proliferative changes in the colon. *Digestiv Diseases* 19 : 1029-1032, 1974
- 9) Filipe MI: Value of histochemical reactions for mucosubstances in the diagnosis of certain pathological conditions of the colon and rectum. *Gut* 10 : 577-586, 1969
- 10) Filipe MI: Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. *Br J Cancer* 32 : 60-77, 1975