

実験食道癌の発生に及ぼすアルカリ性逆流性食道炎の影響

島根医科大学第2外科教室 (主任: 中村輝久教授)

東 儀 公 哲

EFFECT OF ALKALINE REFLUX ESOPHAGITIS ON THE INDUCTION OF EXPERIMENTAL ESOPHAGEAL CANCER

Kimiaki TOHGI

2nd Department of Surgery, Shimane Medical University

ラットの胃全摘後、逆流を起こしやすい吻合法としての Billroth-II 法と、起こしにくい Roux-Y 法を作成し、N-amyl-N-methylnitrosamine (以下 AMN) 実験食道癌の発生に及ぼす逆流性食道炎の影響を検討した。その結果、発癌率(扁平上皮癌)は、AMN 開始を胃全摘に先行させる実験では Billroth-II 法92.6%、Roux-Y 法31.3%、対照50.0%であり、胃全摘を AMN 開始に先行させる実験でも、それぞれ93.5%、35.3%、35.0%と、Billroth-II 法に有意に高率であった。部位別では、癌は食道炎の高率な下部食道に多く、食道炎のない上部に少なかった。食道には乳頭腫も発生したがこれと食道炎、癌腫は負の相関にあった。以上より、実験食道癌の発生にアルカリ性逆流性食道炎は promoter として作用したものと考えられた。

索引用語: N-amyl-N-methylnitrosamine, 実験食道癌, 逆流性食道炎と発癌

はじめに

Druckrey (1967)¹⁾以来、わが国でも飯塚ら (1974)²⁾をはじめ種々のニトロサミンによる実験食道癌の報告がある。発癌過程に関するものが多いが、発癌抑制の目的で免疫療法³⁾や補助療法⁴⁾の効果をみたものもある。しかし発癌促進についての研究は少ないようである。

最近、食道癌の発生には発癌 promoter が関係しているのではないかとされている。臨床的にはこれまで、腐蝕性食道狭窄⁵⁾や食道アカラシア⁶⁾が持続すると食道癌ができやすいといわれており、食道裂孔ヘルニアにもなった逆流性食道炎に食道癌が発生したという報告⁷⁾や、胃切除後に発生した食道癌の報告⁸⁾もある。かかる場合は、食道粘膜に対する慢性刺激や食道炎の存在が癌の promoter として働いたものと考えられる。

一方、胆汁酸は大腸癌や残胃癌の発生に促進的に作用するといわれており、実験胃癌の研究では、十二指腸液の胃内逆流が多い術式ほど癌の発生率が高かった

といわれている⁹⁾¹⁰⁾。それでは食道ではどうであろうか。著者は、実験食道癌発癌の過程で、十二指腸液による逆流性食道炎を起こさせてみて、食道炎が食道癌の promoter になりうるかどうかを検討した。

実験方法

1. 実験動物

実験にはドンリュー系雄ラット6~8週齢(体重300g前後、埼玉動物)を用い、飼料はオリエンタル酵母製固型飼料(ラット飼料用MF)を与えた。

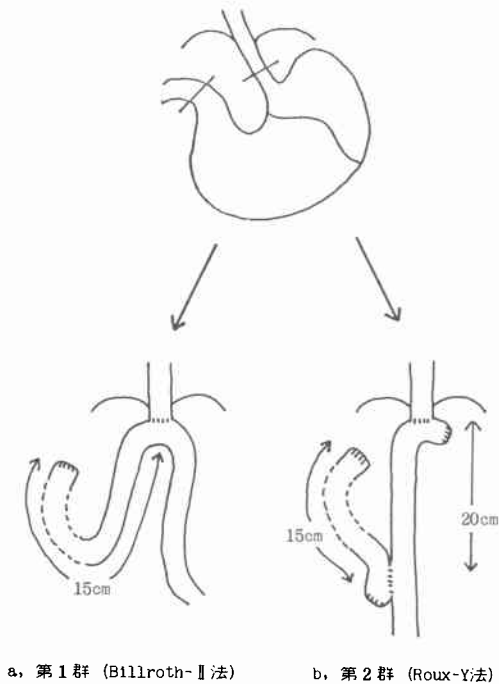
2. 手術方法

ラットの食道に十二指腸液の接触によるアルカリ性逆流性食道炎を起こしやすい群(第1群)と、起こしにくい群(第2群)を作るために、つぎのような各種の手術を行った。

第1群(Billroth-II法): エーテル吸入による全身麻酔下に上腹部正水切開にて開腹。胃全摘、十二指腸断端閉鎖後、十二指腸断端閉鎖部より15cm 肛門側の空腸で食道空腸端側吻合を行った(図1a)。

第2群(Roux-Y法): 胃全摘、十二指腸断端閉鎖後、十二指腸断端閉塞部から15cm 肛門側で空腸を切離して食道と肛門側空腸との間に Orr 法で端側吻合を行い、そこから20cm 肛門側の空腸とさきの切離空腸の

図1 実験的アルカリ性逆流性食道炎の作り方(ラット)



口側端近くとの間に側側吻合を行った(図1b)。

第3群 (sham operation としての単開腹) : 上腹部正中切開後, 開腹時間20分のもの。

第4群 (対照) : 外科的無処置のもの。

ラット数は各群12~45匹とした。消化管吻合は, C-3針付6-0テフデックにて前後左右壁おのおの1針ずつ計4針の1層結節縫合で行い, 腹膜筋層および皮膚の2層縫合で閉腹した。閉腹時と術後1日目にそれぞれ40mlの生食水を皮下注射し, 2日目から水分投与を開始して3日目から固形飼料を与えた。

体重は1週間に1回測定した。

3. 発癌剤とその投与方法

実験食道癌作製の目的でつぎの方法で発癌剤を投与した。

発癌剤には N-amyl-N-methylnitrosamine (半井化学, 横浜, 以下 AMN と略す) を用い, Iizuka ら¹¹⁾の方法に従って, AMN が0.003%の濃度になるように水道水で溶解し給水瓶で60日間自由量を経口投与した。投与量は毎日記録した。

4. 摘出食道標本の検索法

1) 食道内 pH の測定法

屠殺直前にエーテル麻酔下に食道内 pH を測定し

た。測定方法は601A デジタル pH メーター(オリオンリサーチ社)の電極を経口的に挿入し, 食道の上, 中, 下部3か所の粘膜面の pH を測定した。

2) 肉眼的検索法

実験終了後は脱血屠殺して頸部以下の全食道を摘出し, 前壁で縦軸方法に切開して台板上に展開固定, 粘膜面と外膜面の肉眼的性状を上, 中, 下部食道に分けて記録した。

3) 組織学的検索法

10%ホルマリン固定後の食道を上中下に3等分し, おおのおをさらに縦軸方向に3等分して合計9個の短冊状の切片とし, ブロック包埋したものを右側から切り出して紙織標本を作成, ヘマトキシリン・エオジン染色したものを顕微鏡で観察した。

5. 予備実験

1) 食道における AMN 発癌過程 (予備実験-I)

AMN 経口投与中の食道における発癌過程をみるために, 投与開始後2週, 4週, 6週, 12週目にそれぞれ10匹ずつ屠殺し, 食道を肉眼的, 組織学的に検索した。

2) 胃全摘後の逆流性食道炎の発生過程 (予備実験-II)

胃全摘ラット第1群と第2群について術後2日, 3日, 4日, 5日, 6日, 7日, 8日, 9日, 10日, 12日, 14日, 4週, 6週, 8週, 12週, 14週目におおの2匹ずつ屠殺し, 食道粘膜の性状を肉眼的, 組織学的に検索した。

6. 本実験

AMN 実験食道癌の発生に及ぼすアルカリ性逆流性食道炎の影響をみるために, つぎの2つの実験を行った。AMN 投与開始日と胃全摘施行日の日取りは予備実験の結果を参考にして決定した。

図2 AMN 実験食道癌の発生に及ぼす逆流性食道炎の影響



1) AMN 投与を胃全摘に先行させる群(本実験-I)
第1群39匹, 第2群34匹, 第3群14匹に, AMN 投与開始後6週目にそれぞれ前述の手術を行い, 術後もひきつづき合計60日間 AMN を投与し, 投与開始後14週目に屠殺して食道を検索した(図2a).

2) 胃全摘を AMN 投与に先行させる群(本実験-II)

第1群45匹, 第2群45匹, 第3群12匹についてまずそれぞれ前述の手術を行い, 術後2週目から AMN を60日間投与, 投与開始後14週目に屠殺して食道を検索した(図2b). 第4群20匹には手術を行わず AMN だけ60日間投与した.

7. 推計学的処理法

検定には一般化 Wilcoxon 検定法を用い, $p < 0.05$ を有意差と判定した.

実験結果

1. 予備実験結果

1) AMN 投与における食道粘膜の変化

正常ラットに対する AMN 投与2週目の食道粘膜には肉眼的変化はなかった. 4週目では全体的に白色肥厚化し, 6週目では直径1~5mmの乳頭腫が1匹当たり1~2個散在性に出現した. 12週目ではこれが平均7個と多発し, 乳頭腫とは別の場所に異型上皮が出現した. 12週目までの検索では癌は認められなかった.

以上の結果から, AMN 投与6週目では食道に乳頭腫が発生しはじめるが, 異型上皮や癌は出現していないものと考えられた.

2) 胃全摘後の逆流性食道炎の発生状況

第1群では術後4日目までは食道粘膜に変化はなかった. 5, 6日目では食道下端が白色化し, 7日目ではそこにびらんが出現した. 8日目では白色化とびらは下部食道全体に拡大し, 10~14日目ではところどころに潰瘍を形成した(図3). 4~14週目ではこれらの変化は高度となり範囲も中部食道上限に波及した. 組織学的には, 5, 6日目では粘膜の軽度肥厚だけであったが, 7, 8日目では円形細胞浸潤が出現するとともに上皮や粘膜の脱落した場所もみられ, 14日目では UI-II の潰瘍も出現した(図4). 第2群では, これらの変化を起こしたものの頻度は第1群よりもはるかに低く, 病変も軽度であった.

以上の結果から, 第1群のようにアルカリ性十二指腸液が逆流しやすい状態では, 術後2週目までに逆流性食道炎が成立するものと考えられた.

2. 本実験結果

図3 逆流性食道炎の肉眼所見. 胃全摘 Billroth-II 法後14日目. 食道の下部から中部にかけて散在性に粘膜の肥厚と浅い潰瘍(矢印)がみられる.

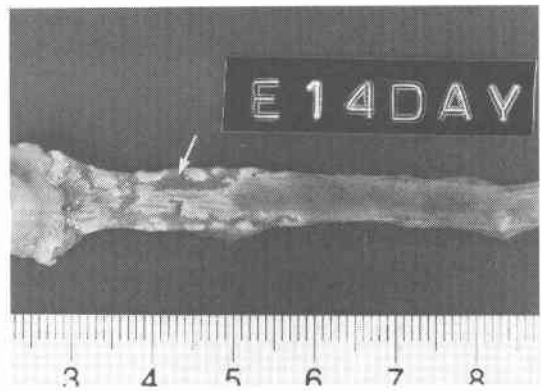


図4 逆流性食道炎の組織所見($\times 40$). 図3と同一例. 炎症性細胞浸潤と UI-II の潰瘍(矢印)がみられる.



1) AMN 総投与量

60日間に投与された AMN の総量は, 実験-I では1匹当たり第1群平均73.8mg, 第2群61.4mg, 第3群64.0mgと3群間には差がなく($p < 0.01$), 実験-IIでも, 第1群45.4mg, 第2群49.2mg, 第3群53.2mg, 第4群53.0mgと4群間には差はなかった($p < 0.01$). しかし, 実験-IとIIの間にはそれぞれ平均66.4mg, 50.2mg, と手術が AMN 投与に先行した実験-IIの方に投与量が少なかった.

2) 体重の変化

図5 AMN 先行群 (本実験-I) の体重の推移

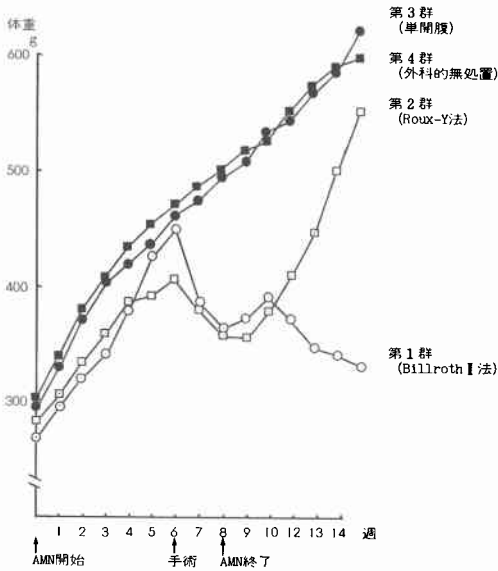
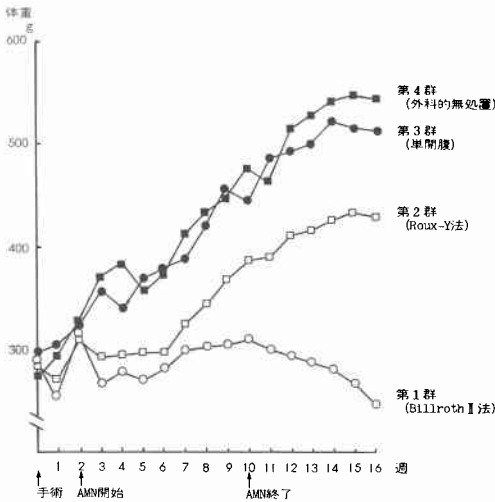


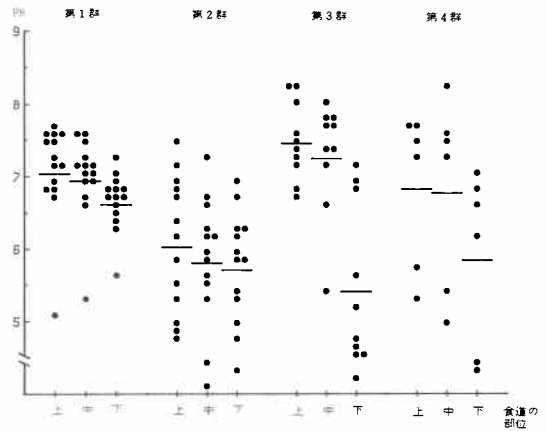
図6 手術先行群 (本実験-II) の体重の推移



実験-Iにおける各群の体重の変化を図5に示した。第1群では術後、体重は一時増加するもののその後は減少の一途をたどったが、第2群では術後4週目で増加に転じ、屠殺時には第3、第4群と同じレベルまで急速に回復した。実験-IIでは図6のごとく、第1群では体重の増加はなく術後11週目から減少し、第2群では術後6週間は増加も減少もなかったが、その後は第3、第4群と同じ増加曲線であった。

以上の結果から、AMNの投与は正常ラットと単開

図7 食道内圧 PH の変化 (本実験-I)



腹例では体重増加にほとんど影響を与えないが、胃全摘例では、逆流性食道炎の起こりにくい術式では術後4~7週で増加に転じるのに対して、食道炎を起こしやすい術式では漸次減少をきたすことが判明した。したがって、実験当初に胃全摘を行ったもののほうが、あとで行ったものよりも体重増加に対する負の影響が大で、それは実験終了時まで持続するものと考えられた。

3) 食道内 pH の変化

実験-Iの場合だけ測定した(図7)。その結果、すべての実験群において上部食道と中部食道はpH 7前後であった。これに対して下部食道では、第1群6.6±0.4、第2群5.7±0.7、第3群5.3±1.2と、第1群が他の2群よりもややアルカリ性に傾いていた。

4) AMN 投与を手術に先行させる群 (本実験-I)

実験結果を表1に示した。

(1) 術後生存率

術後生存率は第1群27/39 (69.2%)、第2群16/34 (47.1%)、第3群14/14 (100%)であった。死因は術後出血4匹、縫合不全3匹、イレウス15匹、栄養失調8匹で、これらは主として実験初期のものであった。死亡例は検索対象から除外した。

(2) 食道の肉眼的所見

i) 食道炎の発生状況

肉眼的、組織学的に確認された逆流性食道炎の発生率は、下部食道が第1群100%、第2群43.8%、第3群0%であり、うち中部食道に波及していたのは第1群92.6%、第2群25.0%と第1群が第2群よりも高頻度かつ広範囲であった (p<0.01)。上部食道まで波及し

表1 AMN 実験食道癌の発生に及ぼす逆流性食道炎の影響 (本実験-I, AMN 先行の場合)

術式	実験数	検索数	食道の部位	食道炎発生数 (%)	乳頭腫発生数 (個数/匹)		癌腫発生匹数 (発癌率)	
第1群 (Billroth-II法)	39	27	上部	0	15 (0.6)	7 (25.9)		
			中部	25 (92.6)	24 (0.9)	3 (0.1)	25 (92.6)	18 (66.7)
			下部	27 (100.0)	6 (0.2)	6 (0.2)	23 (85.2)	
第2群 (Roux-Y法)	34	16	上部	0	14 (0.9)	3 (18.8)		
			中部	4 (25.0)	56 (3.5)	26 (1.6)	5 (31.3)	1 (6.3)
			下部	7 (43.8)	16 (1.0)	16 (1.0)	3 (18.8)	3 (18.8)
第3群 (外科的無処置)	14	14	上部	0	17 (1.2)	1 (7.1)		
			中部	0	80 (5.7)	23 (1.6)	7 (50.0)	4 (28.6)
			下部	0	40 (2.9)	40 (2.9)	4 (28.6)	4 (28.6)

図8 乳頭腫の肉眼所見。第3群(単開腹+AMN)。下部食道に2個の山田III型の乳頭腫(矢印)がみられる。

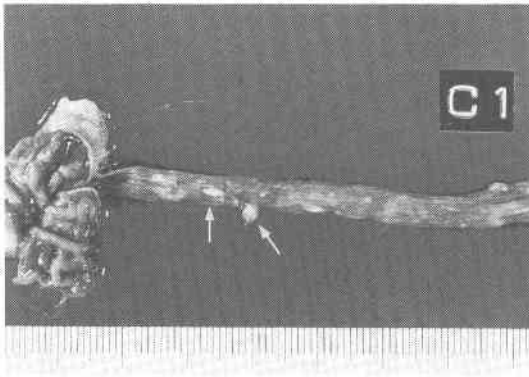
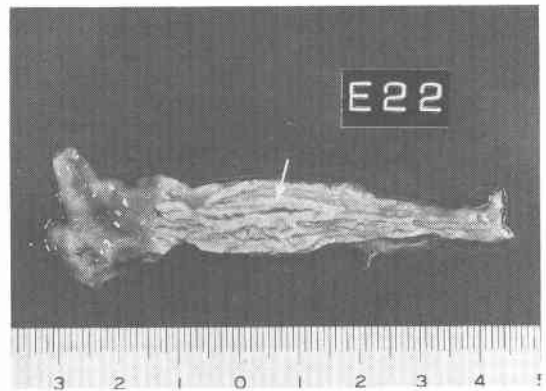


図9 食道粘膜の肉眼所見を第1群(胃全摘 Billroth-II法+AMN)。中、下部食道に粘膜の白色肥厚化をともなう逆流性食道炎(矢印)がみられる。乳頭腫は認められない。癌の有無は不明である。



ていたものはなかった。食道炎の程度は、びらん、潰瘍形成など進行したものは第1群に多く、粘膜肥厚、上皮脱落など軽度の場合は第2群に多かった。

ii) 乳頭腫の発生状況

乳頭腫の大きさは直径1~9mmで3mm前後のものが最も多く、形状では山田III型が最も多く、II型、I型もみられたがIV型はなかった(図8)。潰瘍をともなうものはなかった。第1群では1匹当たり平均0.9個で部位別では上部に多く、第2群では3.5個で部位別差はなく、第3群では5.7個で下部に多かった(群別、部位別それぞれ $p < 0.01$)。

以上、1匹当たりの乳頭腫の発生個数は第3群、第2群、第1群の順になり、乳頭腫の発生部位と逆流性食道炎の発生部位とは負の相関にあった。

iii) 癌の発生状況

どの群においても肉眼的に食道炎や乳頭腫などと区

別して癌の発生状況を同定することはできなかった(図9)。

(3) 食道の組織学的所見

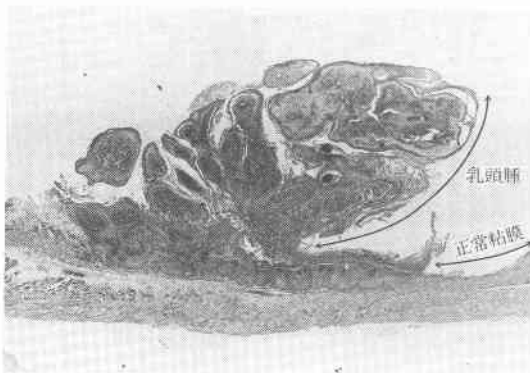
組織学的検索は、ホルマリン固定後9分割した食道切片(1切片の大きさはおよそ25×2mm)から得られた各1枚の顕微鏡用プレパラートで行った。乳頭腫の組織像を図10に示す。1枚のプレパラートに見出された癌組織はその大小、多寡にかかわらず1個の癌と計算した。癌はすべて扁平上皮癌であり、正常食道にも発生したが、食道炎の部位ではそこに一致して存在することが多かった。肉腫は発見されなかった。乳頭腫に癌が併存していたのは全乳頭腫160個中、第3群の中部食道の1個(0.6%)だけであった。なお、リンパ節転移の検索は行わなかった。

組織学的にみると、癌組織は紡錘形ないし卵円形で

表2 AMN 実験食道癌の発生に及ぼす逆流性食道炎の影響 (本実験-II, 食道炎先行の場合)

術式	実験数	検索数	食道の部位	食道炎発生数 (%)	乳頭腫発生数 (個数/匹)	癌腫発生匹数 (発癌率)
第1群 (Billroth-II法)	45	31	上部	2 (6.5)	53 (1.7)	29 (93.5)
			中部	29 (93.5)		
			下部	31 (100.0)		
第2群 (Roux-Y法)	45	34	上部	0	123 (3.6)	12 (35.3)
			中部	2 (5.9)		
			下部	5 (14.7)		
第3群 (単開腹)	12	12	上部	0	66 (5.5)	4 (33.3)
			中部	0		
			下部	0		
第4群 (外科的無処置)	20	20	上部	0	107 (5.4)	7 (35.0)
			中部	0		
			下部	0		

図10 乳頭腫の組織像 (HE, ×7). 図8と同一例. 山田III型で, 潰瘍や癌などの併存はない.

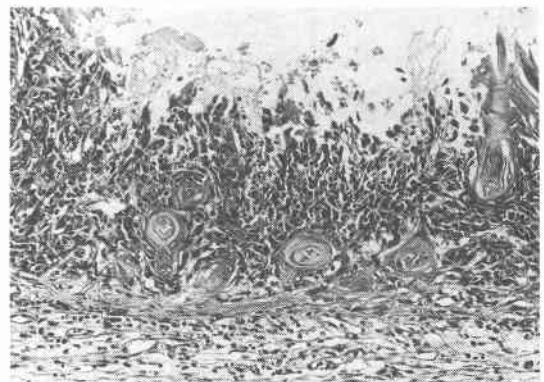


扁平上皮に類似した蜂巣状の配列を示し, 胞体はクロマチンに富み, 多数の核分裂がみられた. 間質は粗な結合組織からなり, リンパ球や好中球が浸潤していた. 深達度は粘膜下層までのものがほとんどであり, 最も深いものでも中心が固有筋層に達してU1-IIIの潰瘍を作っているものであった (図11).

各群における発癌率は, 第1群では92.6%で部位別では上部25.9%, 中部66.7%, 下部85.2%と, 中, 下部に高かった. 第2群では31.3%で, 上部18.8%, 中部6.3%, 下部18.8%と部位差はなかった. 第3群では50.0%で, 上部7.1%, 中部28.6%, 下部28.6%であった.

以上, 癌は第2, 第3群よりも第1群に多く ($p < 0.01$), 第2, 第3群間には差はなかった ($p > 0.05$).

図11 食道癌の組織像 (HE, ×100). 図9と同一例. 下部食道における粘膜下層に及ぶ低分化型扁平上皮癌. 癌真珠がみられる.



食道の部位別では, 上部食道では3群間に差はなく ($p > 0.05$), 中部と下部では第1群に多かった (それぞれ $p < 0.01$).

5) 手術をAMNに先行させる群 (本実験-II)
実験結果を以下表2によって説明する.

(1) 術後生存率

術後生存率は第1群68.9% (31/45), 第2群75.6% (34/45), 第3群100% (12/12), 第4群100% (20/20)で, 死因は縫合不全もあったがほとんどは栄養失調であった.

(2) 食道の肉眼的所見

食道炎の発生状況は第1群の中部93.5%, 下部100%に対して第2群ではそれぞれ5.9%, 14.7%と第1群に

高率であった ($p < 0.01$)。また1匹当たりの乳頭腫の数は、第1群1.7個、第2群3.6個、第3群5.5個、第4群5.4個であり、特に食道炎の好発部位である下部食道に限ってみると、食道炎の頻度の高い第1群に、頻度の低い第2群や食道炎のない第3群、第4群よりも少数であった ($p < 0.01$)。

癌の有無は肉眼的に判定できなかった。

(3) 食道の組織学的所見

全乳頭腫349個のうち、癌が併存していたのは第2群の中部食道、第3群の下部食道、第4群の上部食道にそれぞれ1個ずつの計3個(0.9%)であった。癌はすべて扁平上皮癌であった。肉腫は認められなかった。

各群における発癌率は第1群93.5%、第2群35.3%、第3群33.3%、第4群35.0%と、第1群が第2、第3、第4群よりも高率(それぞれについて $p < 0.01$)であり、後3者間には差はなかった。また特に食道炎が高率の第1群の中、下部食道においては、低率の第2群や食道炎なしの第3、第4群に比べて高率であった(それぞれについて $p < 0.01$)。

考 察

慢性炎症を起こしている食道良性疾患には食道癌が併発しやすいことはよく知られている。すなわち、腐蝕性食道狭窄⁵⁾や食道アカラシア⁶⁾では慢性炎症や食料残渣の慢性刺激が誘因といわれ、食道裂孔ヘルニアでは胃液による⁷⁾、胃切除や胃腸吻合後では十二指腸液による逆流性食道炎⁸⁾が誘因といわれている。癌は逆流の最も多く下部食道に多く発生し、たとえば食道裂孔ヘルニアにおける食道癌の頻度は0.075~3.9%¹²⁾といわれる。

一方近年、食道癌のおもな原因が発癌 promoter であるのではないかという臨床的事実が報告されている。Berenblum (1947) ら¹³⁾による化学発癌剤 DMBA と局所刺激剤クロトン油を用いたマウス皮膚癌の実験以来、発癌には initiation (この場合 DMBA) と promotion (この場合クロトン油) の2つの異った過程が関係しているという発癌2段階説が提唱されている。initiation と promotion の間の期間の長短とは無関係に腫瘍が形成されるので、前者の作用は細胞内に不可逆的に起こった変化だと考えられている。これを実際の食道癌に当てはめてみると、Cheng (1982) ら¹⁴⁾は、中国の一地方に食道癌が地方病的に多発しているのは、かび (fungus) に汚染された漬物のなかに発見されたニトロサミンが関係しているとし、この地方に食道粘膜の過形成が多いことからこれが何らかの pro-

moter の介在で癌化していくと考え、マウスの実験で確かめている。また Hecker (1981)¹⁵⁾は、Curacao 島に高頻度にみられる食道癌は住民が嗜好品として日常的に服用しているトウダイクサ科の植物 (Croton flavens L.) の葉や枝が発癌 promoter ではないかといっている。これらの老え方に従うと、食物残渣の滞留や逆流性食道炎といった慢性炎症性刺激は食道癌の promoter のひとつではないかと考えられる。

initiator としての化学発癌物質としては、Druckrey (1967) ら¹⁾が N-methyl-N-nitrosoaniline (MNA) の経口、皮下、静脈投与によってラットの食道癌の発生を報告して以来、現在まで N-butyl-N-nitrosourethane (BNUR) 1974¹⁶⁾、N-methylbenzyl nitrosamine (MBNA) 1978¹⁷⁾、N-methyl-N-amyl nitrosamine (MNAN) 1979¹⁸⁾、N-amyl-N-methyl nitrosamine (AMN) 1980¹¹⁾、などのニトロソ化合物を用いた実験食道癌のモデルが確立され、食道化学発癌に及ぼす細菌性因子⁴⁾、免疫賦活剤³⁾、微量元素¹⁹⁾²⁰⁾、性ホルモン²¹⁾などの影響が研究されている。それによると、細菌や男性ホルモンは promoter として、免疫賦活剤 OK-432、微量元素 (モリブデン、亜鉛)、女性ホルモンは inhibitor として作用したと考えることができる。ところが逆流性食道炎が食道癌の誘因になっているのではないかと推測せしめるにたる十分な臨床的事実があるにもかかわらず、これまで食道への酸素胃液やアルカリ性十二指腸液の逆流が実験食道癌の発生や増殖にどのように影響を及ぼすかをみた報告はみられない。

一方、近年、initiator とともに発癌における promoter の研究もさかんに行われ、そのひとつである胆汁酸については大腸癌発生に促進的に作用するといわれている²²⁾。胃においても、Dahms ら⁹⁾や西土井¹⁰⁾は N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) を用いたラットの残胃癌発生の実験で、胆汁を含む十二指腸液の胃内逆流をきたしやすいつ吻合法の方が、逆流しにくい術式よりも高い発癌率であることをみており、その後も同様の報告が散見される²³⁾。Klarfeld ら²⁴⁾は臨床成績から同様の見解を述べている。

著者はこれらの成績を参考にして、アルカリ性十二指腸液による逆流性食道炎の食道癌発生における意義を明らかにするため本研究を行った。

Berenblum ら¹³⁾の発癌2段階説に従って、AMN を initiator、逆流性食道炎を promoter と予想して実験食道癌の発生過程を検討しようという場合、まずそれぞれにおける最適な実験条件を明らかにしておくこと

が大切である。Iizuka ら¹¹⁾の方法によると AMN 経口投与によってラットの食道には乳頭腫も扁平上皮癌も出現するが、両者の時期的、部位的関係については必ずしもはっきりしていない。そこで著者は、予備実験でまず正常ラットに AMN を投与して経過をみたところ、6 週目頃から乳頭腫が発現しはじめ、12 週目になると乳頭腫が多発するとともに異型上鼓も出現することが分った。したがって、もし乳頭腫がその後の発癌過程になんらかの関わりがあるとすれば、乳頭腫ができはじめる 6 週目に逆流性食道炎を負荷できるような手術をして、AMN も引き続いて投与する方法が妥当と考えられた。一方、promoter としての逆流性食道炎は術後何日目に十分な条件をそなえるにいたるのかをみるために、逆流をきたしたしやすい Billroth-II 法型の再建例で経過をみたところ、1 週目で下部食道にびらんと円形細胞浸潤が出現、2 週目でこれに浅い潰瘍が混在するようになり、その後はこの病変の範囲が中部食道の上限まで拡大した。すなわち、胃全摘後 1 週目から 2 週目にかけての下部食道は逆流性食道炎としての十分な病理組織学的条件をそなえており、発癌 promoter としての関与を正常食道部位と比較する上で最適の条件にあると考えられた。

つぎの問題点は AMN の総投与量とラットの屠殺時期である。Iizuka ら¹¹⁾の方法に従って、最低濃度かつ最短期間で発癌する条件として、AMN 濃度 0.003%、60 日間の経口投与を行ったが、この実験系では開始後最短 13 週間で発癌をみたという報告²⁵⁾があるので、逆流性食道炎の発癌促進効果の可能性を考慮するとこれに近い 14 週目に屠殺するのが妥当と判断した。

以上のような予備実験結果を参考にして、AMN 投与開始後 6 週目に胃全摘して逆流性食道炎を負荷する実験-I と、胃全摘後 2 週目から AMN 投与を開始する実験-II を行った。

実験-I は、はじめに initiation があって promotion が追従するという発癌実験としてはいわば正統的な手法である。その結果を要約すると、逆流性食道炎を起こしやすい Billroth-II 法再建群の発癌率 92.6% に対して、食道炎を起こしにくい Roux-e 法再建群では 31.3% と低率で対照群（非切除）の 50.0% と有意差はなく、部位別にみても癌は食道炎の好発する下部食道に多発しており、食道炎は発癌促進的に作用したと考えられる成績であった。この実験では乳頭腫も多発し、それは癌とは逆に非食道炎部に多かった。乳頭腫の癌

化の問題については、Napalkov ら²⁶⁾は AMN によるラット食道の発癌実験で乳頭腫の癌化を報告し、塩崎²⁷⁾も N-Methylbenzylamine (NMBA) と NaNO₂ を用いた同様の実験で乳頭腫などの隆起性病変の癌化を認めている。しかし、これを否定するものもある²⁸⁾。著者は最初、乳頭腫の癌化の可能性を考慮に入れた実験条件を設定したのであるが、結果をみると乳頭腫と癌腫の併存はわずか 0.6% と同一場所に両者が併存していることはほとんどなく、乳頭腫が癌の先行病変とはとうてい考えられなかった。実験-I における食道炎、乳頭腫、癌腫の局在性の相互関係をまとめて考察すると、食道炎がないところには乳頭腫は多いが癌腫は少なく、逆に食道炎のあるところには乳頭腫は少なく癌腫は多いという事実から単純に考えると、食道炎の部分には本質的に乳頭腫が発生しにくいのか、あるいは発生しても存続できないのかのどちらかであろうが、いずれにせよこの部分では食道粘膜の破壊と修復がくりかえされ、これに十二指腸液中の胆汁酸の影響も加わって発癌に強い促進的作用を及ぼしたのではないかと推定される。

実験-II では、逆流性食道炎が確実にになった術後 2 週目から AMN を投与したもので、いわば promoter が先行して initiator が後ということになる。この実験系の臨床的意味づけは、良性食道疾患に合併した食道癌には先行する慢性炎症が少なくないことが知られており、たとえば腐蝕性食道狭窄では 20 年以上、食道アカラシアでは 10 年以上の病期期間をもつものが多い²⁹⁾。そしてこの間に initiator が作用する機会を全く否定することはできないということである。たとえば Cheng ら¹⁴⁾の報告にみるような、もともと食道の過形成上皮をもっているようなものがニトロサミンを含有する漬物を嗜好するというような場合もこれに該当しよう。

実験-II の結果をみると、Billroth-II 法の場合の発癌率は 93.5% と、Roux-Y 法の 35.3%、単開腹 (Sham operation) の 33.3%、対照群の 35.0% よりも高率であった。この結果は実験-I の成績ときわめて類似しており、乳頭腫と癌腫の併存率 (0.9%) も、食道炎、乳頭腫、癌腫の 3 者の相互関係も実験-I と同じであった。

両実験とも AMN の投与期間、投与終了から屠殺までの期間は同じであるが、実験結果に関係のありそうな他の背景因子を比較してみると、手術が AMN 投与に先行した実験-II の方が実験-I よりも全般的に摂食

文 献

量が少なかったせいか体重減少も高度で栄養失調死も多く、AMN 総摂取量も少なかった。胃切除後食道癌の発生原因のなかに、胆汁や胃液の食道内逆流、代謝面での変化と並んで、栄養低下もそのひとつに挙げられている³⁰⁾。今回の実験では、栄養状態や AMN の多寡などがどのように絡みあって実験-I と II がほぼ同じような結果になったのかを解明することはできなかったが、発癌に十分な AMN 総量と逆注性食道炎の存在という2つの因子がその他の背景因子の影響をはかるかに凌駕していたからにはほかならないと推定している。

以上、発癌剤 AMN 投与開始と逆流性食道炎の負荷手術は、多少時期をずらしても synergistic に発癌を促進し、逆流性食道炎は発癌させやすく(実験-I)、発癌しやすい(実験-II)状態であると考えられた。

ま と め

ラットにおける AMN 実験食道癌の発生に及ぼすアルカリ性逆流性食道炎の影響をみるために、AMN 投与開始を胃全摘術に先行させる群(実験-I)と、その逆の群(実験-II)とで発癌の状態を観察した。なお胃全摘後の再建法には、十二指腸液の逆流しやすい Billroth-II 法と、逆流しにくい Roux-Y 法を適用した。その結果、

1. 実験-I においては、逆流性食道炎は Roux-Y 法よりも Billroth-II 法のほうに高率に発生し、食道炎は下部食道に多く、中部これにつき、上部には発生しなかった。食道炎と発癌との関係では、食道炎の存在するところでは癌腫(扁平上皮癌)が高率に発生したが乳頭腫は少なく、逆に食道炎のないところでは乳頭腫は多く発生したが癌腫は少なかった。癌腫と乳頭腫の併存はきわめて稀であった。すなわち食道炎と癌の発生は正の相関にあり、食道炎、癌腫と乳頭腫は負の相関にあった。

2. 実験-II では、AMN 摂取量、栄養状態、体重増加などの背景因子が実験-I よりも劣っていたが、実験-I とほぼ同じ結果が得られた。

以上より、アルカリ性逆流性食道炎は、initiator としての AMN 投与開始時期とは無関係に、synergistic な意味で発癌 promoter として作用したのではないかと推察される。

最後に、御指導、御校閲いただいた恩師中村輝久教授に感謝いたします。

なお本論文の要旨は第85回日本外科学会総会、第3回国際食道疾患会議で発表した。

- 1) Druckrey H, Preussmann R, Ivankovic S et al: Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten. Krebsforsch 69: 103-201, 1967
- 2) 飯塚紀文, 市村セツ子, 河内 卓ほか: N-メチルベンジルアミンと亜硝酸ソーダによる実験食道癌. 医のあゆみ 88: 576-580, 1974
- 3) 岡 正朗: 食道癌の免疫学的研究—N-butyl-N-nitrosourethan (BNUR) 誘発ラット食道癌における免疫化学療法剤の投与の影響. 山口医 30: 15-29, 1981
- 4) 山下精彦: 食道癌の発生と治療に関する臨床的ならびに実験的研究. 日消外会誌 16: 507-514, 1983
- 5) Bigelow NH: Carcinoma of the esophagus developing at the site of lye stricture. Cancer 6: 1159-1164, 1953
- 6) Wychulis AR, Woolam GL, Anderson HA et al: Achalasia and carcinoma of the esophagus. J Am Med Assoc 215: 1638-1641, 1971
- 7) Adler RH, Rodriguez J: The association of hiatus hernia and gastroesophageal malignancy. J Thoracic Surg 37: 553-569, 1959
- 8) Shearman DJC, Finlayson NDC, Arnott SJ et al: Carcinoma of the oesophagus after gastric surgery. Lancet 1: 581-582, 1970
- 9) Dahm K, Eichen R, Mitschke H: Das Krebsrisiko im Resektionsmagen-Zur Bedeutung des duodenogastrischen Refluxes bei verschiedenen gastroenteralen Anastomosen. Langenbecks Arch Chir 344: 71-82, 1977
- 10) 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
- 11) Iizuka T, Ichimura S, Kawachi T: Esophageal carcinoma in rats induced by N-amyl-N-methylnitrosamine. Gann 71: 94-99, 1980
- 12) Moghissi K: Carcinoma of the cardia and thoracic oesophagus coexisting with and following sliding hiatal hernia and peptic stricture. Thorax 32: 342-345, 1977
- 13) Berenblum I, Shubik P: A new, quantitative, approach to the study of the stages of chemical carcinogenesis in the mouse's skin. Br J Cancer 1: 383-391, 1947
- 14) Cheng SJ, Sala M, Li MH et al: Esophageal cancer in Linxian county, China: A possible etiology and mechanism (Initiation and promotion). Carcinogenesis 7: 167-174, 1982
- 15) Hecker E: Cocarcinogenesis and tumor promoters of the diterpene ester type as possible

- carcinogenic risk factors. *J Cancer Res Clin Oncol* 99 : 103—124, 1981
- 16) Takeuchi M, Kamiya S, Odashima S: Induction of tumors of the forestomach, esophagus, pharynx, and oral cavity of the Donryu rat given N-butyl-N-nitrosourethan in the drinking water. *Gann* 65 : 227—236, 1974
 - 17) Stinson SF, Squire RA, Sporn MB: Pathology of esophageal neoplasms and associated proliferative lesions induced in rats by N-methyl-N-benzyl nitrosamine. *JNCL* 61 : 1471—1475, 1978
 - 18) Bulay O, Mirvish SS: Carcinogenesis in rat esophagus by intraperitoneal injection of different doses of methylb-amylnitrosamine. *Cancer Res* 39 : 3644—3646, 1979
 - 19) Luo XM, Wei HJ, Yang SP: Inhibitory effects of Molybdenum on esophageal and forestomach carcinogenesis in rats. *JNCI* 71 : 75—80, 1983
 - 20) Fong LYY, Lee JSK, Chan WC et al: Zinc deficiency and the development of esophageal and forestomach tumors in Sprague-Dawley rats fed precursors of N-nitroso-N-benzylmethylamina. *JNCI* 72 : 419—423, 1984
 - 21) 小林研二: 実験食道癌の発生に及ぼす性ホルモンの影響. *日外会誌* 86 : 280—289, 1985
 - 22) Nigro ND, Bhadrachari N, Chomchai C: A rat model for studying colonic cancer: Effect of cholestyramine on induced tumors. *Dis Colon Rectum* 16 : 438—443, 1973
 - 23) 宮田龍和: 十二指腸液胃逆流の胃発癌促進作用. *日消外会誌* 21 : 1357—1362, 1988
 - 24) Klarfeld J, Resnick G: Gastric remnant carcinoma. *Cancer* 44 : 1129—1133, 1979
 - 25) 岡崎滋樹: N-メチル-N-アミルニトロサミンによる実験食道癌発生の経時的研究. *日消病会誌* 78 : 1889—1895, 1981
 - 26) Napalkov N, Pozhariski K: Morphogenesis of experimental tumors of the esophagus. *JNCI* 42 : 927—940, 1969
 - 27) 塩崎 均: 食道癌の発癌過程ならびに発育形式に関する組織学的研究. *大阪大医誌* 30 : 343—358, 1978
 - 28) Reuber MD: Histopathology of preneoplastic and neoplastic lesions of the esophagus in BUF rats ingesting diethylnitrosamine. *JNCI* 58 : 313—315, 1977
 - 29) 八板 朗, 嶺 博之, 雷 哲明ほか: 本邦における良性食道疾患に併存した食道癌. *日消外会誌* 17 : 681—689, 1984
 - 30) 前田迪郎, 古賀成昌, 金山博友ほか: 胃切除後の食道癌. *手術* 38 : 1419—1424, 1984