

## 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—

金沢大学医学部外科学第2講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

佐原 博之

胃液および十二指腸液の食道への逆流が食道発癌に及ぼす影響を明らかにするために、ウイスター系雄性ラットを用いて以下のモデルを作製した。1) DGER群: 胃液と十二指腸液の混合液が逆流, 2) DER群: 十二指腸液のみ逆流, 3) GER群: 胃液のみ逆流, 4) RY群: 非逆流, 5) SO群: 単開腹。発癌剤の投与は行わずに飼育し, 50週で屠殺・検索した。食道癌の発生頻度は, DGER群 (n=12): 83%, DER群 (n=13): 77%, GER群 (n=16): 0%, RY群 (n=11): 0%, SO群 (n=12): 0%で, 十二指腸液が逆流する群でのみ, 食道癌が発生した ( $p < 0.001$ )。食道癌23個の組織型は, 腺癌が16個, 腺扁平上皮癌が4個, 扁平上皮癌が3個であった。発生部位は, 腺癌は吻合線付近, 扁平上皮癌は吻合線から離れた口側で, 背景粘膜として前者はBarrett上皮, 後者は逆流性食道炎がみられた。以上より, 逆流性食道炎を母地とした食道発癌に十二指腸液の逆流が関与することが示唆された。

**Key words:** esophagus, neoplasms, reflux esophagitis, Barrett's esophagus, duodenal juice

### はじめに

食道の扁平上皮が円柱上皮に置き換わる Barrett 食道は, 食道腺癌の発生母地と考えられ, 逆流性食道炎がその原因である<sup>1)</sup>。また, 食道癌は中部食道に好発するが, 胃切除後では下部食道に多く, この発癌に逆流が関与することが示唆されている<sup>2)~5)</sup>。

逆流と食道発癌との関係を基礎的に裏づける研究として, 発癌物質誘発の食道癌が逆流で発育が促進されることが報告されている<sup>6)~9)</sup>。また, 発癌剤の投与がなくとも, ラットの腺胃へ十二指腸液を逆流させると腺癌が発生し<sup>10)~12)</sup>, さらに前胃へ逆流させると前胃や下部食道に扁平上皮癌や腺癌が発生することが明らかにされている<sup>13)</sup>。この事実は, 逆流する十二指腸液が単に食道発癌の promotor としてだけでなく, initiator としても作用する可能性を示している。

この研究は食道へ胃液および十二指腸液をそれぞれ逆流させ, いずれの逆流液が発癌に関与するかを実験的に明らかにすることを目的とした。

### 材料と方法

#### 1. 実験材料および飼育条件

体重250g前後の Wistar 系雄性ラットを用いた。

ラットを1ケージに3匹ずつ入れ, 室温は $22 \pm 3^\circ\text{C}$ , 湿度は $55 \pm 5\%$ に保ち飼育した。飼料はCRF-1固形飼料 (日本 Charles River 社製) を, 飲料水は水道水を与え, 実験期間中は発癌剤の投与は行わなかった。

#### 2. 手術

24時間絶食後, ジエチルエーテルの吸入麻酔下で上腹部正中切開で開腹し, 以下の手術を行った (Fig. 1)。

1) 胃十二指腸液逆流手術 (duodenogastroesophageal reflux: DGER)

迷走神経を温存し, 腹部食道を切離し胃側断端を閉鎖したあと, 空腸を挙上し, Treitz 靱帯より4cm 肛門側の部位で食道空腸端側吻合を行った。この手術によって, 胃液と十二指腸液の混合液が食道へ逆流する。

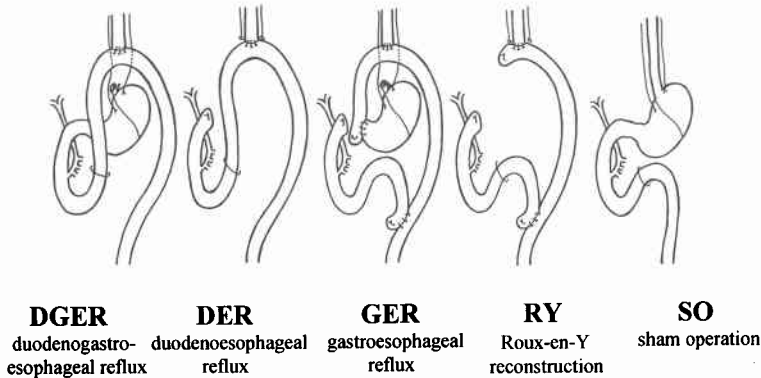
2. 十二指腸液逆流手術 (duodeno-esophageal reflux: DER)

胃全摘後, 十二指腸断端を閉鎖し, 空腸を挙上し, Treitz 靱帯より4cm 肛門側の部位で, 端側で食道空腸吻合を行った。この手術によって, 十二指腸液のみが食道へ逆流する。

3. 胃液逆流手術 (gastroesophageal reflux: GER)

迷走神経を温存し, 腹部食道を切離し, 胃側断端を閉鎖した。ついで, 幽門輪上で胃と十二指腸を切離し十二指腸断端を閉鎖した。そのあと, Treitz 靱帯より

Fig. 1 Operative procedures



4cm 肛門側で空腸を切離し、肛門側端を挙上し断端から4cmの部位で端側で食道空腸吻合を行い、胃幽門側断端と挙上空腸断端部を端側吻合した。そして、吻合部から10cm 肛門側の空腸と切離空腸の口側断端部とを側々吻合した。この手術によって、胃液のみが食道へ逆流する。

4) 非逆流手術 (Roux-en-Y : RY)

胃全摘後、十二指腸断端を閉鎖し、Treitz 靭帯より4cm 肛門側の部位で空腸を切離、肛門側端を挙上し食道空腸端側吻合を行った。ついで吻合部から10cm 肛門側の空腸と切離空腸の口側断端部とを側々吻合した。この手術では、食道への逆流はない。

5) 単開腹手術 (sham operation : SO)

開腹後、腹腔内臓器を手指で攪拌し、閉腹した。

なお、消化管吻合は、すべて atraumatic needle 付 7-0血管吻合用絹糸を用いて 8 針の全層結節縫合で行った。手術後 2 日間は絶飲食とし、その後 1 日間は水道水のみを与えた。手術後 45 週を経過したものを有効動物とし、生存動物を 50 週で犠牲死させた。

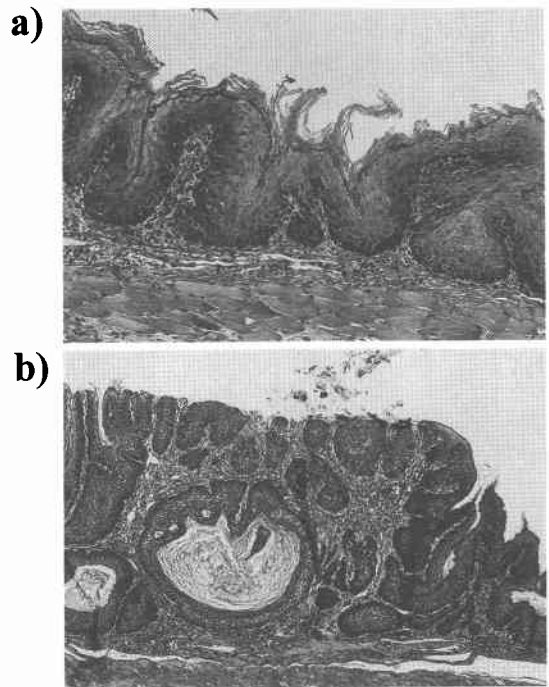
3. 病理学的検索法

標本摘出の手順は、ジエチルエーテル吸入麻酔下で開腹し、手術操作による逆流を防ぐため食道空腸吻合部より約 1cm 肛門側で空腸を 4-0 絹糸で結紮した。次いで開胸し食道を慎重に周囲組織から剝離し、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。食道を前壁で切開しながら、食道上端、中央部、下端の粘膜面の pH を Digital pH/ION meter TP-100 (東興化学研究所製) を用いて測定した。さらに胃が残存している動物では、胃を摘出し、大彎線に沿って切開し、腺胃粘膜面の pH を測定した。摘出臓器は 10%ホルマリン液で 24 時間固定後、食道長軸に

沿う 3mm 間隔の step section を作製し、パラフィンで包埋した。このブロックを 5 $\mu$ m で薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色、一部 periodic acid schiff reaction (PAS 反応) による粘液染色を行い、組織学的に検索した。

4. 病理学的記載法

Fig. 2 a) Regenerative thickening in the middle esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times$  40). b) Intra mural cyst with basal cell hyperplasia in the middle esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times$  20).



食道の組織学的病変は、以下の6つに分類した。

1) 再生肥厚 (regenerative thickening: RT)

上皮が肥厚し、正常の2倍以上の厚さを示すもの、上皮の層構造は良好に保たれ、棘細胞の増殖、乳頭の延長、不全角化症を伴う (Fig. 2a)。

2) 基底細胞過形成 (basal cell hyperplasia: BCH)

基底細胞層が肥厚し、上皮の厚さの15%以上を占めるもの。しばしば壁内嚢胞を伴う (Fig. 2b)。上皮の層構造は、保たれている。

3) ピラン (erosion: ERO)

上皮が脱落し、炎症細胞の浸潤を認めるもの。

4) 異形成 (Dysplasia: DYS)

扁平上皮領域で、軽度から中程度の異形性を示すもので、核は多形性で濃染し、核分裂像が増加している。上皮の層構造は完全にあるいは部分的に保たれており、粘膜下層への浸潤は認められないもの (Fig. 3a)。

5) Barrett 上皮 (Barrett's epithelium: BE)

食道扁平上皮が円柱上皮と杯細胞に置き換わっているもの (Fig. 3b)。

6) 癌

Fig. 3 a) Dysplasia in the middle esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times 33$ ). b) Barrett's epithelium in the lower esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times 40$ ).

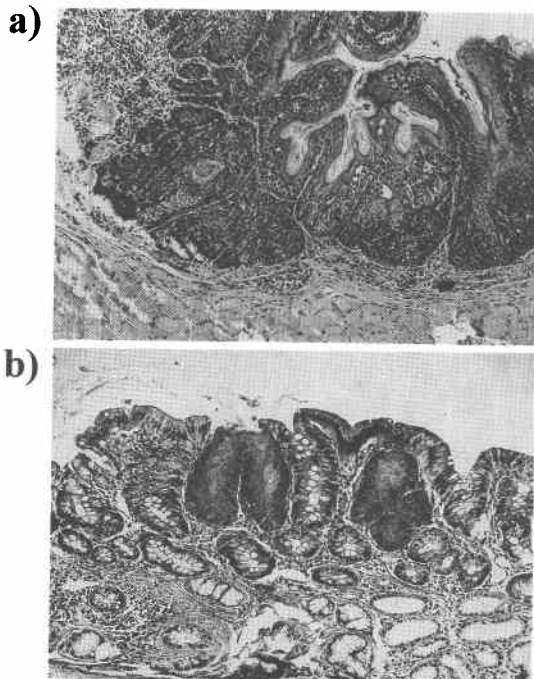
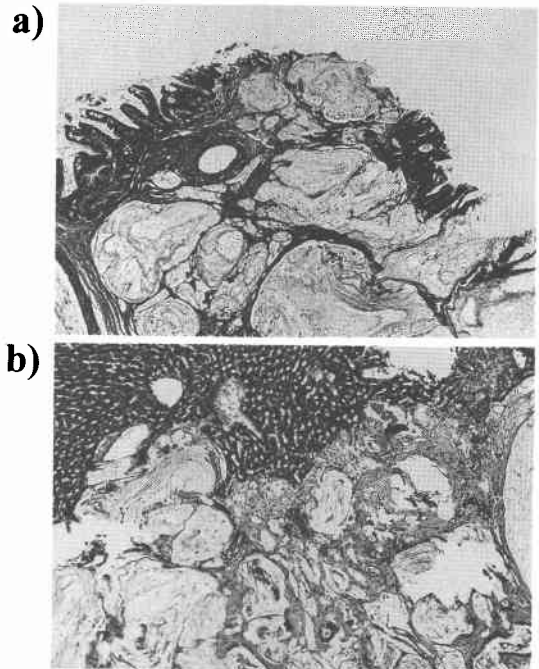


Fig. 4 a) Mucinous adenocarcinoma in the lower esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times 20$ ). b) Direct invasion into the liver of adenocarcinoma (H.E.  $\times 10$ ).



細胞ならびに構造上の異型が見られる上皮組織で、粘膜下層以下に浸潤を認めるもの。

a) 腺癌 (adenocarcinoma: ADC)

腺管あるいは粘液結節を形成する癌 (Fig. 4)。

b) 扁平上皮癌 (squamous cell carcinoma: SCC)

充実性の胞巣を形成し、重層扁平上皮への分化を示す癌 (Fig. 5a)。

c) 腺扁平上皮癌 (adenosquamous carcinoma: ASC)

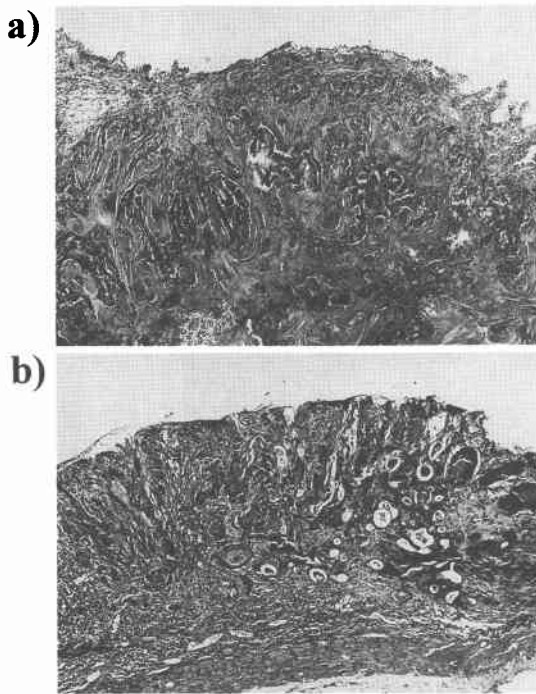
腺管と扁平上皮成分の癌が1つの癌巣内に混在している癌 (Fig. 5b)。

組織学的深達度は食道癌取扱い規約 (第8版)<sup>14)</sup>に従い、固有筋層まで達するものを mp、わずかに外膜に達するものを a<sub>1</sub>、明らかに外膜に出ているものを a<sub>2</sub>、明らかに他臓器浸潤を認めるものを a<sub>3</sub> とした。

5. 統計処理

各測定値は平均値と標準偏差 (M $\pm$ SD) で示した。平均値の検定は2群ずつ行い、まず分散をF検定で行い、分散が等しい場合は Student の t 検定を、異なる場合は Welch の t 検定を行った。病変の出現率の検定は

**Fig. 5** a) Squamous cell carcinoma in the middle to lower esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times 20$ ). b) Adenosquamous carcinoma in the middle esophagus of a rat in DER group (H.E.  $\times 20$ ).



Fisherの直接法で行った。危険率5%未満を有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. 有効動物数

DGER群は12匹, DER群は13匹, GER群は16匹, RY群は11匹, SO群は12匹であった。

### 2. 体重の変化

術前体重は各群間に有意差はなかった。実験終了時の体重は, DER群とDGER群は他の群に比べ有意に軽かった( $p < 0.01$ )。DER群とDGER群には有意差はなく, SO群はRY群, GER群より重い傾向があったが有意差はなかった(**Table 1**)。

### 3. 食道粘膜面pH

上部食道のpHには各群間に有意差はなかった。中部および下部食道のpHは, GER群はその他の群より有意に低値で( $p < 0.001$ )。DGER群は, RY群, DER群, SO群より有意に低値であり(中部食道: DGER vs. DER or SO;  $p < 0.05$ , DGER vs. RY;  $p < 0.001$ ,

**Table 1** Initial and final body weight

	Initial weight(g)	Final weight(g)
DGER	236.7 $\pm$ 23.0	269.6 $\pm$ 54.1
DER	242.3 $\pm$ 10.5	252.3 $\pm$ 64.9
GER	235.0 $\pm$ 18.9	395.3 $\pm$ 52
RY	240.9 $\pm$ 18.9	358.6 $\pm$ 45
SO	241.0 $\pm$ 15.6	426.0 $\pm$ 84

Initial weight: ns.

Final weight: DGER or DER vs. RY or GER or SO;  $p < 0.01$

**Table 2** Comparison of mucosal pH

	Esophagus			Stomach
	upper	middle	lower	
DGER	7.29 $\pm$ 0.44	6.85 $\pm$ 0.2	6.67 $\pm$ 0.26	2.39 $\pm$ 0.26
DER	7.42 $\pm$ 0.38	7.25 $\pm$ 0.31	7.22 $\pm$ 0.31	
GER	7.25 $\pm$ 0.59	5.83 $\pm$ 0.97	5.03 $\pm$ 0.99	2.33 $\pm$ 0.57
RY	7.65 $\pm$ 0.37	7.37 $\pm$ 0.37	7.18 $\pm$ 0.37	
SO	7.43 $\pm$ 0.23	7.34 $\pm$ 0.36	7.05 $\pm$ 0.37	2.07 $\pm$ 0.4

upper esophagus: ns.

middle esophagus: GER vs. others;  $p < 0.001$ , DGER vs. DER or SO;  $p < 0.05$ , DGER vs. RY;  $p < 0.001$

lower esophagus: GER vs. others;  $p < 0.001$ , DGER vs. SO or RY;  $p < 0.01$ , DGER vs. DER;  $p < 0.001$

stomach: ns.

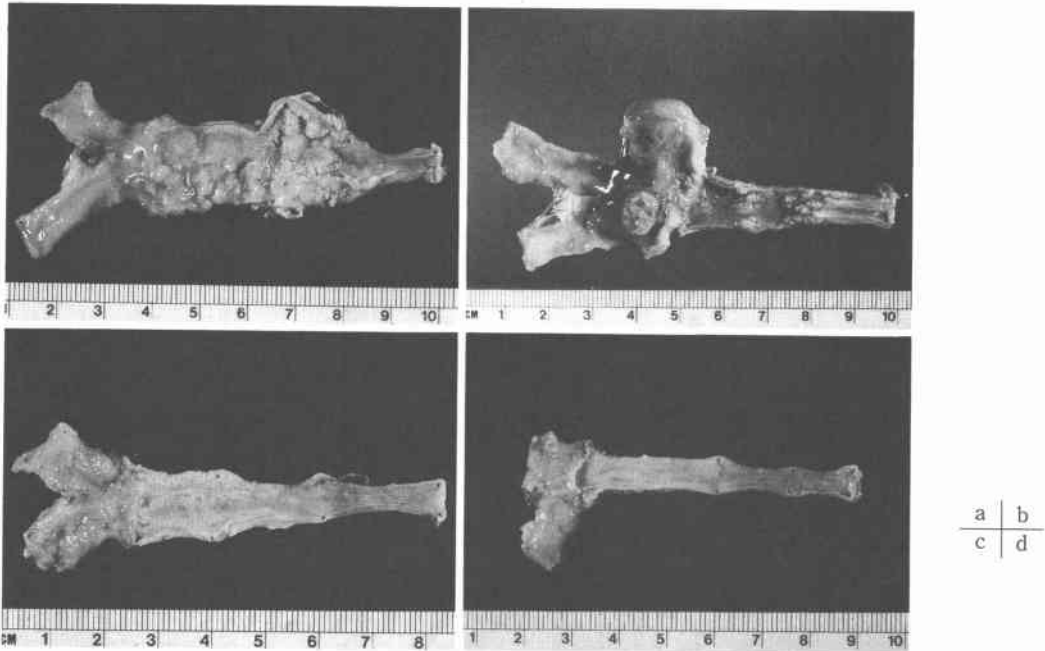
下部食道: DGER vs. SO or RY;  $p < 0.01$ , DGER vs. DER;  $p < 0.001$ ), 胃液を含む逆流がある群ではpHは低下していた。胃を温存した動物の腺胃のpHは, GER群, DGER群, SO群では有意差がなかった(**Table 2**)。

### 4. 食道の肉眼的所見

DGER群では, 食道空腸吻合線は不明瞭であった。下部食道は, 滑らかな光沢のある粘膜で覆われ, 壁は著明に肥厚し, 凹凸を認めた。中部食道の粘膜面は粗造で, 壁は肥厚し, 激しい凹凸を認めた。上部食道は正常な食道粘膜を保っていた(**Fig. 6a**)。中下部食道とも肉眼的に, 結節状の隆起を示す部分は認めるが, 食道炎の部分と区別して癌を同定することはできなかった。

DER群はDGER群とほぼ同様な所見で, 肉眼的には両群間に差はなかった。下部食道では2例にほぼ全周性を占める巨大な隆起性病変を認めた(**Fig. 6b**)。その他の例では, 激しい凹凸を示し, 結節状の隆起は認めるが, 肉眼的に癌と同定できる病変は認めなかった。

Fig. 6 Macroscopic findings  
a) DGER, b) DER, c) GER, d) RY



GER群の下部食道は軽度拡張し、粘膜面はやや粗造であるが、平坦で、壁肥厚もない。吻合線は比較的明瞭であった (Fig. 6c).

RY群は正常な食道粘膜を保ち、吻合線は明瞭であった (Fig. 6d).

5. 食道の組織学的所見

食道癌はDGER群の10例(83.3%)、DER群の10例(76.9%)に発生し、GER群、RY群、SO群には認めなかった。癌発生率はDER群とDGER群はRY群、GER群、SO群と比べ有意に高かった (p<0.001) (Table 3)。DER群とDGER群の癌発生率に有意差はなかった。

組織型別にみると、ADCは16例に認め、発生率はDGER群75%、DER群54%で、RY群、GER群、SO群に比べ有意に発生率が高かった (p<0.01)。ADCの粘液結節はPAS染色に強染した。SCCは3例に認め、発生率はDGER群17%、DER群8%であった。ASCは4例に認め、発生率はDGER群17%、DER群15%であった。

癌の壁深達度はmp:16個、a<sub>1</sub>:4個、a<sub>2</sub>:2個、a<sub>3</sub>:1個であった (Table 4)。a<sub>3</sub>の浸潤臓器は肝臓であった (Fig. 4b)。実験群別の壁深達度は、DER群は

Table 3 Incidence of carcinoma of esophagus

	n	Carcinoma	histological type of carcinoma		
			ADC	SCC	ASC
DGER	12	10(83%)	9(75%)	2(17%)	2(17%)
DER	13	10(77%)	7(54%)	1(8%)	2(15%)
GER	16	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
RY	11	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
SO	12	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)

ADC: Adenocarcinoma, SCC: Squamous cell carcinoma, ASC: adenosquamous carcinoma

Fisher's exact probability test

Carcinoma: DGER or DER vs. GER or RY or SO; p<0.001

ADC: DGER or DER vs. GER or RY or SO; p<0.01

mp: 6個、a<sub>1</sub>: 1個、a<sub>2</sub>: 2個、a<sub>3</sub>: 1個、DGER群はmp: 10個、a<sub>1</sub>: 3個、a<sub>2</sub>、a<sub>3</sub>はなく、有意差はなかった。組織型別の癌壁深達度は、ADCはmp: 10個、a<sub>1</sub>: 4個、a<sub>2</sub>: 1個、a<sub>3</sub>: 1個で、SCCはmp: 2個、a<sub>2</sub>: 1個、ASCはmp: 4個で、有意差はなかった。DER群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ADCで深達度はa<sub>3</sub>、1例はSCCで深達度はa<sub>2</sub>であった。

**Table 4** Depth of invasion of esophageal carcinoma

	Number of carcinoma	mp	a1	a2	a3
All cases	23	16	4	2	1
group					
DER	10	6	1	2	1
DGER	13	10	3	0	0
histological type					
ADC	16	10	4	1	1
SCC	3	2	0	1	0
ASC	4	4	0	0	0

ADC : Adenocarcinoma, SCC : Squamous cell carcinoma, ASC : Adenosquamous carcinoma

リンパ節および他臓器転移は認めなかった。

背景病変では、RTはDGER群100%、DER群100%、GER群88%、RY群73%で4群間には有意差はなかったが、SO群の0%と比べると有意に発生率が高かった ( $p < 0.001$ )。

BCHは、SO群0%、RY群36%で有意差はなく、GER群では38%に認め、SO群より有意に発生率が高かった ( $p < 0.05$ )。DER群、DGER群では100%に認め、SO群、RY群、GER群より有意に発生率が高かった ( $p < 0.001$ )。

EROはRY群18%、GER群19%で、SO群と有意差はなかった。DER群、DGER群は100%に認め、SO群、RY群、GER群より有意に発生率が高かった ( $p < 0.001$ )。

DYSはRY群27%、GER群19%に認めたが、SO群と有意差はなかった。DER群、DGER群は100%に認め、SO群、RY群、GER群より有意に発生率が高かった ( $p < 0.001$ )。

BEは、RY群18%、GER群13%に認めたが、SO群と有意差はなかった。DER群は92%、DGER群は100%に認め、SO群、RY群、GER群より有意に発生率が高かった ( $p < 0.001$ ) (Table 5)。

癌と背景病変の分布をみると、逆流による粘膜の変化は、吻合部から口側に向かって、BE、ERO、BCH、RTの順に認めた。ADCは、吻合線付近に発生し、周囲にBEを認めた。SCCは、1例のみ吻合線付近に認めたが、その症例はBEを認めず周囲にBCH、RTを認めた。SCCの2例とASCは、BEの領域より口側に発生し、周囲にBCH、RT、DYSを認めた (Fig. 7)。

**考 察**

本研究では胃液および十二指腸液が単独あるいは混合で、直接食道へ逆流するモデルをWistar系雄性

**Table 5** Incidence of histological lesions of esophagus

	n	RT	BCH	ERO	DYS	BE
DGER	12	12(100%)	12(100%)	12(100%)	12(100%)	12(100%)
DER	13	13(100%)	13(100%)	13(100%)	13(100%)	12(92%)
GER	16	14(88%)	6(38%)	3(19%)	3(19%)	2(13%)
RY	11	8(73%)	4(36%)	2(18%)	3(27%)	2(18%)
SO	12	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)

RT : Regenerative thickening, BCH : Basal cell hyperplasia, ERO : Erosion, DYS : Dysplasia, BE : Barrett's epithelium

Fisher's exact probability test

RT : SO vs others ;  $p < 0.001$

BCH : SO vs. GER ;  $p < 0.05$ , GER or RY vs. DER or DGER ;  $p < 0.01$ , SO vs. DER or DGER ;  $p < 0.001$

ERO : GER or SO or RY vs. DER or DGER ;  $p < 0.001$

DYS : GER or SO or RY vs. DER or DGER ;  $p < 0.001$

BE : GER or SO or RY vs. DER or DGER ;  $p < 0.001$

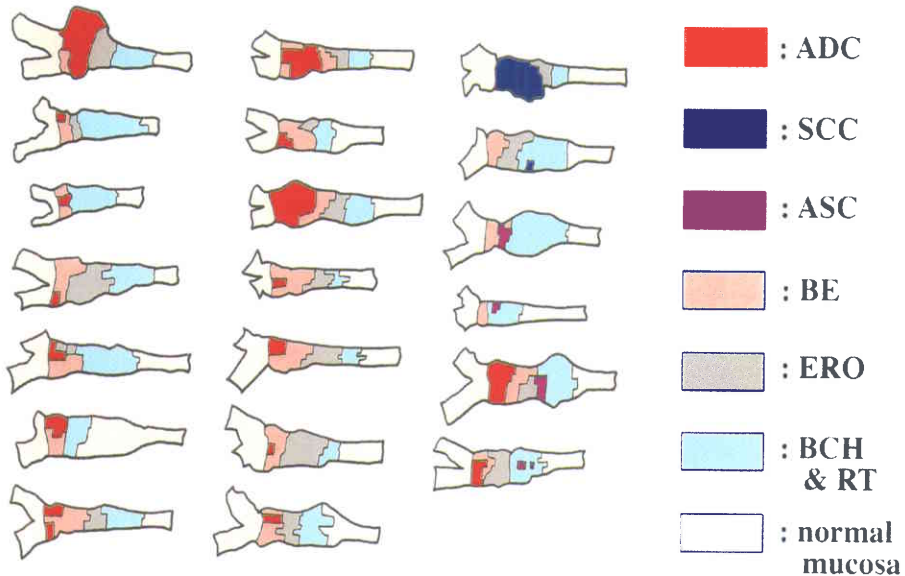
ラットを用いて作製し、発癌剤の投与を行わず50週間飼育し、食道発癌を検索した。その結果、十二指腸液のみが逆流する群および胃液と十二指腸液の混合液が逆流する群にそれぞれ77%、83%と高頻度に食道癌を認めたが、胃液のみが逆流する群および非逆流群では食道癌は認めなかった。すなわち、胃液ではなく十二指腸液の逆流に食道発癌に対する initiator 作用があることが明らかにされた。

一般に食道癌は中部食道に多いが、胃切除を受けた患者に発生する食道癌は下部食道に好発する<sup>2)~5)</sup>。前田ら<sup>4)</sup>の胃切除後の食道癌128例の集計では、下部食道癌の頻度は39.4%で、全国食道癌登録調査報告1,808例の31.0%に比較して多い傾向がみられる。また、前田らは良性疾患に対して幽門側胃切除を受けた287例を対象としたアンケートで、Billroth I法では21.8%、Billroth II法では25.9%の症例が逆流症状を訴え、胃切除後の逆流の頻度は決して少なくないと報告している。さらに内視鏡にて検索を行った62例のうち、24.2%の症例に下部食道に肉眼的逆流性食道炎を認め、その41.9%に食道癌と密接に関連する dysplasia を生検で認めたとしている<sup>15)</sup>。

発癌剤を用いた逆流と食道発癌の関連について東儀<sup>9)</sup>は、N-amyl-N-methylnitrosamine (AMN) を経口投与し、胃全摘8週後の再建法別の食道癌発生率を検索し、Billroth II法再建群93%、Roux-en-Y法再建群31%、無処置50%の発癌率で、逆流性食道炎が高度な下部食道に多く発癌したとしている。瀬戸ら<sup>6)</sup>も、同様なモデルを作製し、これに低濃度の ANM を皮下注射

Fig. 7 Map of histological lesions in esophagus

ADC: adenocarcinoma, SCC: Squamous cell carcinoma, ASC: Adenosquamous carcinoma, BE: Barrett's epithelium, ERO: Erosion, BCH: Basal cell hyperplasia, RT: Regenerative thickening



したところ、14週後の Roux-en-Y 法再建群と無処置群には癌は発生しなかったが、Billroth II 法再建群の全例に、逆流性食道炎の領域内に扁平上皮癌の発生をみている。Pera<sup>7)</sup>は、2,6-DMNM 皮下注射のみの群では扁平上皮癌しか認めなかったが、胃液と十二指腸液の混合液が逆流するモデルでは扁平上皮癌と腺癌の両病変を認めている。Attwood ら<sup>8)</sup>は、胃液および十二指腸液逆流のモデルを作製し、術後 DMNM あるいは MNAN の腹腔内投与を行い、22週後に屠殺した。胃食道逆流は発癌率に影響を与えなかったが、十二指腸食道逆流に発癌率の有意な上昇をみている。また発癌剤のみの投与の群では扁平上皮癌しか認めなかったが、十二指腸液逆流群で50%に腺癌の発生を認めたと報告している。これらの報告は、十二指腸液の逆流が、ラットの食道での扁平上皮癌および腺癌の発育に promotor 作用を有していることを示している。

一方、胃切除後の残胃の発癌に、十二指腸液の逆流が関与していることが指摘されている<sup>16)</sup>。実験的にも、ラットに十二指腸液を逆流させると発癌剤の投与なしで胃癌が発生することが明らかとなっている<sup>10)~12)</sup>。松

本<sup>17)</sup>はラットで経幽門的に胃に十二指腸液を逆流するモデルを作製し、逆流する十二指腸液を検索したところ、硝酸還元能を有した細菌が異常増殖し、umu-test 陽性となる変異原性物質が含まれていたと報告している。このように、ラットの胃の発癌においては、十二指腸液の逆流は promotor 作用のみならず initiator 作用を有していることが明らかにされている。

ラットの前胃や食道での扁平上皮領域の発癌における十二指腸液逆流の影響について、瀬川<sup>13)</sup>は十二指腸液をラット前胃に逆流させ、発癌剤の投与なしに飼育し、扁平上皮癌と腺癌の発生を認めたと報告している。この報告は、十二指腸液を含む胃液の逆流が食道癌を発生させることを示している。

本研究で発生した癌の背景粘膜をみると、Barrett 上皮が十二指腸液の逆流する DER および胃液と十二指腸液の混合液が逆流する DGER 群のほぼ全例に認められた。DER 群で、吻一 Barrett 上皮を認めなかった例は、下部食道が巨大な扁平上皮癌で占められており、下部食道の粘膜が評価できなかったものである。

Barrett 食道は、1950年の Barrett<sup>18)</sup>の最初の報告で

は先天異常と考えられていたが、1976年 Borrie ら<sup>19)</sup>は Barrett 食道には、0～10歳と40歳以上の2つの年齢分布があることから、先天異常のほか後天的な発生機序もあると述べた。そして、近年では小児にみられる Barrett 食道も詳細に検討すると逆流が関与しており<sup>20)</sup>、先天異常を肯定する根拠は少ないと考えられている<sup>21)</sup>。さらに逆流が Barrett 上皮を発生させることがイヌの実験で確認され<sup>22)23)</sup>、後天説が現在では一般的である。

しかし、胃食道逆流が起こっても、Barrett 食道となる症例と逆流性食道炎にとどまる症例が存在する理由については、明確にされていない。また、逆流成分の胃液、十二指腸液いずれが Barrett 食道の発生に関係するのかも論議のあるところである。臨床的には、Barrett 食道患者は、通常の逆流性食道炎や正常の人々に比べ胃酸が過剰分泌し<sup>24)</sup>、酸の暴露時間が長い<sup>25)</sup>という報告がある。一方、基礎酸分泌を検討すると、Barrett 食道の症例は、健康人よりも亢進しているものの、症状のない胃食道逆流の症例とは差はなかったとするものもある<sup>26)</sup>。Barrett 食道の症例だけを取り上げると、愁訴のある症例の方がいない場合に比べて、食後の胃内胆汁酸濃度が高く<sup>27)</sup>、アルカリの暴露が増加している<sup>28)</sup>。Waring ら<sup>29)</sup>は、胆汁 scan を用いた十二指腸胃逆流の頻度は、Barrett 食道症例では健康コントロールに比べ有意に高く、さらに胃食道逆流を認める対象では Barrett 食道が認められる例が認めない場合に比べ高い傾向にあったとしている。また、胃全摘術後にも Barrett 食道が発生する事実は、胃酸のみが Barrett 食道の発生原因ではないことを示すものである<sup>30)31)</sup>。Hassall<sup>21)</sup>は、Barrett 上皮の発生は、扁平上皮が破壊されることが前提条件であるとし、2つの根拠を述べている。第1に、内視鏡で Barrett 上皮より近位の拡張部で組織学的に潰瘍を認めていた部位に後に Barrett 上皮が出現していること<sup>32)33)</sup>、第2に、Barrett 上皮の組織内に、粘膜筋板の平滑筋増殖、固有筋層のコラーゲン増生などの潰瘍痕癢を思わす所見がしばしば認められることである<sup>34)35)</sup>。

これまで実験的に Barrett 食道を作製したという報告では、胃酸の逆流が原因であるとしているが<sup>22)23)</sup>、これらの報告では、逆流手術とともに下部食道粘膜切除が行われており、胃液の逆流のみで Barrett 食道を作製したという報告はない。実験的食道炎において、胃液より十二指腸液成分のほうが影響が大きいとする報告は多い<sup>36)~38)</sup>。本研究での Barrett 上皮の発生頻度

は、胃液のみの逆流の GER 群では13%、逆流のない RY 群では18%で、十二指腸液の逆流を認める群に比べ有意に低率であった。RY 群でも頻度は少ないが Barrett 上皮が発生した原因は、Roux-en-Y 再建でも微量ながら十二指腸液が食道に逆流していた可能性と、吻合操作による炎症の影響で Barrett 上皮が発生する可能性とが考えられる。Barrett 食道は胃液のみの逆流でも発生するが、十二指腸液の逆流の方がはるかに影響が強く、重要であることが本研究で示されているものとする。

逆流による粘膜の変化の分布は、吻合部から口側に向かって、Barrett 上皮、ピラン、基底細胞過形成、再生肥厚の順に認められた。これらの変化は、十二指腸液の暴露の程度差によるものと考えられた。Barrett 上皮を認めた例では、Barrett 上皮の領域の口側に小円形細胞浸潤を伴うピランが認められた。持続する逆流により食道の扁平上皮が傷害され、ピランとなり、さらに逆流が継続することにより、この環境に適応可能な上皮、すなわち円柱上皮を誘発して、Barrett 食道が発生すると思われた。これは、Hassall<sup>21)</sup>の考えを支持するものである。

Barrett 上皮の起源について Bremner ら<sup>22)</sup>は、イヌの下部食道の粘膜を切除し、食道裂孔ヘルニアを作製すると、粘膜の切除された部分が円柱上皮に置き換わることより、胃粘膜がはいあがって (creeping) 修復されたものと推察した。その後、Gillen ら<sup>23)</sup>は、イヌの下部食道において、胃と食道粘膜切除部の間に扁平上皮を全周性に残すことによって胃上皮との連続性を絶ったモデルでも、扁平上皮切除部が円柱上皮に置き換わることを確認し、はいあがりだけでは説明できなく、食道腺由来を主張した。最近では Barrett 食道は metaplasia によって起こるという考え方が一般的である<sup>21)</sup>。本研究で下部食道にみられた円柱上皮は、杯細胞は認めるが、Paneth 細胞はなく、絨毛構造を示さず、ところどころ扁平上皮が残存していたことから、ピランが修復される過程で食道扁平上皮の幹細胞の異分化によって発生した metaplasia であると考えられた。しかし、吻合部においては、挙上空腸の粘膜面と境界なく連続しており、空腸粘膜のはいあがりによって起こる機序も否定できない。

本研究で発生した食道腺癌の占居部位は、空腸との吻合線付近で、その周囲には Barrett 上皮を認めた。このことのみから、ピランが修復され完成した Barrett 上皮に変異原性物質の刺激が加わり癌が発生したの



か、ピランの修復が起こりつつある上皮から癌が発生したのかは断定できないが、Barrett上皮と食道腺癌の発生には密接な関係があることは明らかである。

逆流性食道炎あるいはBarrett食道を認める症例に、腺癌のみではなく扁平上皮癌も発生しやすいとする報告がみられる<sup>39)~42)</sup>。本研究で発生した扁平上皮癌および腺扁平上皮癌の背景に、再生肥厚および基底細胞過形成といった逆流性食道炎の所見を認めたことは、これらの報告を支持するものである。十二指腸液に含まれる変異原性物質が、扁平上皮の幹細胞に直接働き、扁平上皮癌が発生すると推測される。

十二指腸液の中で発癌に関与するものは、胆汁であるのか胆汁であるのかは重要な問題である。逆流性食道炎の発生において、Lambert<sup>37)</sup>は胆汁より胆汁のほうが重要であるとし、Lillemoer<sup>28)</sup>は特にトリプシンが重要であると報告している。一方、ラットの胃発癌において、Mason<sup>43)</sup>は胆汁、藤村<sup>11)</sup>は胆汁に発癌作用があったと報告している。

以上、十二指腸液の逆流が食道発癌に対して、promotor作用のみならずinitiator作用を持つことが示された。また、十二指腸液の持続的な逆流によって高頻度にBarrett食道が発生した。胃液のみの逆流では発癌はなく、Barrett食道の発生頻度も低率であった。

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導、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94回日本外科学会総会、第53回日本癌学会総会において発表した。

#### 文 献

- Haggitt RC: Adenocarcinoma in Barrett's esophagus: A new epidemic? *Hum Pathol* 23: 475-476, 1992
- Shearman DJC, Finlayson NDC, Arnott SJ et al: Carcinoma of the oesophagus after gastric surgery. *Lancet* i: 581-582, 1970
- Rossi M, Ancona E, Finco C et al: Esophageal cancer and previous partial gastrectomy. *Int Surg* 69: 369-369, 1984
- 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
- Sprakel B, Langhans P, Heidl G et al: Die Magenresektion—ein Wegbereiter des Oesophaguskarzinoms? Langhans P, Schreiber HW, Häring R, Reding R, Siewert JR, Bunte H, Aktuelle Therapie des Oesophaguskarzinoms. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, 1990, p83-91
- Seto Y: The role of alkaline reflux in esophageal carcinogenesis induced by N-amyl-N-methylnitrosamine in rats. *Int J Cancer* 49: 758-763, 1991
- Pera M, Cardesa A, Bombi JA et al: Influence of esophago-jejunosomy on the induction of adenocarcinoma of the distal esophagus in Sprague-Dawley rats by subcutaneous injection of 2,6-dimethylnitroso-morpholine. *Cancer Res* 49: 6803-6808, 1989
- Attwood SEA, Smyrk TC, DeMeester TR et al: Duodeno-esophageal reflux and the development of esophageal adenocarcinoma in rats. *Surgery* 111: 503-510, 1992
- 東儀公哲: 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. *日消外会誌* 22: 1977-1986, 1989
- 長谷川啓: 十二指腸液逆流によるラットの胃癌発生. *日消病会誌* 88: 1517-1524, 1991
- 藤村 隆: 十二指腸液胃逆流によるラット胃発癌—胆汁, 胆汁の分離逆流モデルによる検討—. *日外会誌* 92: 933-939, 1991
- 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
- 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
- 食道疾患研究会編: 食道癌取扱い規約. 第8版, 金原出版, 東京, 1992, p13-13
- Maeta M, Koga S, Shimizu T et al: Possible association between gastrectomy and subsequent development of esophageal cancer. *J Surg Oncol* 44: 20-24, 1990
- 三輪晃一, 鎌田 徹, 長谷川啓ほか: 胃手術と発癌リスク. *消外* 13: 1505-1512, 1990
- 松本 尚: 逆流による胃癌発生に関する研究—胃・十二指腸液の変異原性について—. *日外会誌* 95: 368-375, 1994
- Barrett NR: Chronic peptic ulcer of oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg* 38: 175-182, 1950
- Borrie J, Goldwater L: Columnar cell-lined esophagus: Assessment of etiology and treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 71: 825-834, 1976
- Dahms BB, Rothstein FC: Barrett's esophagus in children: A consequence of chronic gas-

- troesophageal reflux. *Gastroenterology* 86 : 318—323, 1984
- 21) Hassall E: Barrett's esophagus: Congenital or Acquired? *Am J Gastroenterol* 88 : 819—824, 1993
  - 22) 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
  - 23) Gillen P, Keeling P, Byrne PJ et al: Experimental columnar metaplasia in the canine esophagus. *Br J Surg* 75 : 113—115, 1988
  - 24) Mulholland MW, Reid BJ, Levine DS et al: Elevated gastric acid secretion in patients with Barrett's metaplastic epithelium. *Dig Dis Sci* 34 : 1329—1335, 1989
  - 25) Gillen P, Keeling P, Byrne PJ et al: Barrett's oesophagus: pH profile. *Br J Surg* 74 : 774—776, 1987
  - 26) Mulholland MW, Reid BJ, Levine DS et al: Barrett's esophagus: too much acid, alkali, or both? *Gastroenterology* 98 : 798—799, 1990
  - 27) Gillen P, Keeling P, Byrne PJ et al: Implication of duodenogastric reflux in the pathogenesis of Barrett's esophagus. *Br J Surg* 75 : 540—543, 1988
  - 28) Attwood SEA, DeMeester TR, Bremner CG et al: Alkaline gastroesophageal reflux: Implications in the development of complications in Barrett's columnar-lined lower esophagus. *Surgery* 106 : 764—770, 1989
  - 29) Waring JP, Legrand J, Chinichian A et al: Duodenogastric reflux in patients with Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 35 : 759—762, 1990
  - 30) Meyer W, Vollmar F, Bar W: Barrett's esophagus following total gastrectomy. *Endoscopy* 2 : 121—126, 1979
  - 31) Sandvik AK, Halvorsen TB: Barrett's esophagus after total gastrectomy. *J Clin Gastroenterol* 10 : 587—588, 1988
  - 32) Naef AP, Savary M: Conservative operation for peptic esophagitis with stenosis and columnar-lined lower esophagus. *Ann Thorac Surg* 13 : 543—551, 1972
  - 33) Halvorsen JF, Semb BKH: The Barrett syndrome: An acquired condition secondary to reflux esophagitis. *Acta Chir Scand* 141 : 683—687, 1975
  - 34) Trier JS: Morphology of the epithelium of the distal esophagus in patients with midesophageal peptic strictures. *Gastroenterology* 58 : 444—461, 1970
  - 35) Paull A, Trier JS, Dalton MD et al: The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 295 : 476—480, 1976
  - 36) Kivilaakso E, Fromm D, Silen W: Effect of bile salts and related compounds on isolated esophageal mucosa. *Surgery* 87 : 280—285, 1980
  - 37) Lambert R: Relative importance of biliary and pancreatic secretions in the genesis of esophagitis in rat. *Am J Dig Dis* 7 : 1026—1033, 1962
  - 38) Lillemoe KD, Johnson LF, Harmon JW: Alkaline esophagitis: a comparison of the ability of components of gastroduodenal contents to injure the rabbit esophagus. *Gastroenterology* 85 : 621—628, 1983
  - 39) Ribet ME, Mensier EA: Reflux esophagitis and carcinoma. *Surgery* 175 : 121—125, 1992
  - 40) Li H, Walsh TN, Hennessy TPJ: Carcinoma arising in Barrett's esophagus. *Surgery* 175 : 167—172, 1992
  - 41) Rubio CA, Aberg B: Barrett's mucosa in conjunction with squamous carcinoma of the esophagus. *Cancer* 68 : 583—586, 1991
  - 42) Rosengard AM, Hamilton SR: Squamous carcinoma of the esophagus in patients with Barrett esophagus. *Mod Pathol* 2 : 2—6, 1989
  - 43) Mason RC: Pancreaticoduodenal secretions and the genesis of gastric stump carcinoma in the rat. *Gut* 29 : 830—834, 1988

### Reflux of Duodenal Juice and Esophageal Carcinogenesis in Rats

Hiroyuki Sahara

Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University

This study was designed to investigate the role of duodenal and gastric juice reflux in the genesis of esophageal carcinoma. Male Wistar rats, weighing approximately 250 g, underwent surgery that resulted in duodenogastroesophageal reflux (DGER), duodeno-esophageal reflux (DER), gastroesophageal reflux (GER), or no reflux (RY). Twelve rats underwent a sham operation (SO). The animals were fed a standard maintenance diet and received no carcinogens. The rats were killed and examined 50 weeks after surgery.

Esophageal carcinoma was identified in 23 lesions in 20 cases. The incidence of esophageal carcinoma was 83% in the DGER group (n=12), 77% in the DER group (n=13), 0% in the GER group (n=16), 0% in the RY group (n=11), and 0% in the SO group (n=12). The incidence rates of carcinoma in both the DER and DGER groups were significantly higher than in the other groups ( $p<0.001$ ). Pathologically, 16 lesions were adenocarcinoma (ADC), three were squamous cell carcinoma (SCC), and four were adenosquamous carcinoma (ASC). Adenocarcinoma occurred near the anastomosis, whereas SCC and ASC occurred more proximally. Adenocarcinoma occurred within Barrett's epithelium, whereas SCC and ASC occurred within squamous esophagitis. These findings suggest that duodeno-esophageal reflux is associated with the development of Barrett's esophagus and adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma and squamous cell carcinoma, while gastroesophageal reflux is not associated with the development of carcinoma.

**Reprint requests:** Hiroyuki Sahara Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University  
13-1 Takaramachi, Kanazawa, 920 JAPAN

---