

氏 名 (本 籍)	熊 谷 仁 見 (京都府)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 4 7 2 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 6 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目	Thioprolin inhibits development of esophageal adenocarcinoma induced by gastroduodenal reflux in rats  (チオプロリンは、ラットの胃十二指腸逆流でおこる食道腺癌を抑制する)
審 査 委 員	主 査 教 授 岡 部 英 俊 副 査 教 授 谷 徹 副 査 教 授 村 田 喜 代 史

## 論文内容要旨

*整理番号	475	(よりがな) 氏 名	くま がい ひと み 熊谷仁見
学位論文題目	Thioprolin inhibits development of esophageal adenocarcinoma induced by gastroduodenal reflux in rats (チオプロリンは、ラットの胃十二指腸逆流でおこる食道腺癌を抑制する。)		
目的	<p>Barrett 食道 (以下 BE) は、食道腺癌 (esophageal adenocarcinoma:以下 EAC) の発生母地になっていると考えられている。これまで胃酸の逆流で食道扁平上皮が傷害され、その再生過程に円柱上皮が形成されるという説が有力とされてきたが、胃酸だけでなく十二指腸液を含む胃酸の逆流 (Duodenogastric esophageal reflux ; 以下 DGER) が EAC の発生に関係するとの報告が多くみられるようになった。また、ラットを用いた DGER を起こす動物モデルによって、BE から EAC を作り出すことに成功している。多くの研究者が、十二指腸液中の発癌に関わる因子として、胆汁酸や膵液、さらにニトロソ化合物を作り出す十二指腸液中の硝酸塩還元細菌の繁殖などの関与について検討している。一方、最近では、誘導型 NO 合成酵素 (以下 iNOS) の過剰発現により作り出される NO<sup>+</sup>, ONOO<sup>-</sup> やニトロソ化合物などの活性窒素種 (以下 RNS ; reactive nitrogen species) が、食道癌の発生に関与することが報告されている。</p> <p>Thiazolidine-4-carboxylic Acid (thioprolin ; 以下チオプロリン) は、<i>in vivo</i> 及び <i>in vitro</i> でも、窒素を捕捉することが知られている。十二指腸液-胃逆流により発生する RNS やニトロソ化合物による障害が、食道癌の発生に関与するのであれば、チオプロリンによって EAC の発生が抑制される仮説が成立する。</p> <p>最近、我々は、ヒトで問題となっている胃液と十二指腸液の両方が逆流する新しい動物モデルを作成したが、今回は、このモデルにチオプロリンを投与することにより、その抑制効果と食道癌発生の機序について検討した。</p>		
方法	<p>体重約250gの雄性Wistarラットを用いた。ジエチルエーテルの吸入麻酔下に開腹。トライツ靱帯を3 cm 越えた上部空腸を従切開し、胃食道接合部まで挙上し側々吻合を行った。</p> <p>合計 42 匹のラットに対し、手術を行い、飼料により二群に分類した。1)コントロールとして、手術施行後通常の飼料である CRF-1 を投与するコントロール群と、2)この飼料にチオプロリンを 0.5% 混餌したチオプロリン投与群である。</p> <p>術後 70 週で賭殺し、HE 染色と iNOS の免疫組織化学的検討を streptavidin-biotin-peroxidase (SAB)法を用いて行った。</p> <p>また、統計処理は、Fisher's exact test を用いて行い、<i>p</i> 値は 0.05 未満にて有意とした。</p>		

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、  
2 千字程度でタイプ等で印字すること。  
2. ※印の欄には記入しないこと。

## 結果

耐術動物は、31匹で18匹がコントロール群、13匹がチオプロリン投与群であった。チオプロリン投与群の組織像はコントロール群に類似しているが、粘膜変化はコントロール群に比較してやや軽度であった。EAC、腺扁平上皮癌は、コントロール群ではそれぞれ7/18(38.9%)、3/18(16.7%)であったのに対し、チオプロリン投与群においては全く認められなかった。扁平上皮癌については、コントロール群で1/18(5.6%)、チオプロリン投与群で1/13(7.7%)の割合で認め、両群に有意差はなかった。

BEは、コントロール群よりチオプロリン投与群の方が、発生率は減少したが、有意差はなかった。また、iNOSの免疫染色では、両群のBEともに過剰発現を認めた。

## 考察

GERDとEACとの関連について多くの研究がされてきたが、発癌の原因については、あまり報告されていない。動物モデルで、十二指腸液逆流のみでEACの発生が確認されているため、十二指腸液がEACの発生に何らかの形で寄与していることが推測できる。Correaらは、低酸状態の胃に増殖した細菌が食餌中の硝酸塩を亜硝酸塩に還元させ、この亜硝酸塩がアミンあるいはアミドと結合し、発癌性のあるニトロソ化合物が生成することが胃発癌の機序に関与するとの仮説を立てている。さらにラットの逆流モデルにおいて硝酸塩還元細菌が、十二指腸の逆流する胃内に増殖しているとの報告もある。この細菌の増殖が関与するニトロソ化合物の産生が発癌に関係するという説は、胃十二指腸液を含む胃液の逆流と関連の深い食道腺癌にもあてはまると考えられる。また、慢性炎症の存在下での発癌において、誘導型NO合成酵素(iNOS)の発現が炎症部位や前癌病変などに認められることや、iNOSを用いた発癌実験などから、NOにより生じる活性窒素種(reactive nitrogen species:RNS)が発癌過程に重要であることがいわれている。Barrett上皮が腺癌へ進行する過程においては、コントロール群とチオプロリン投与群に発生したBarrett上皮には、両群ともiNOSの過剰発現が認められた。つまり、チオプロリンはiNOSの過剰発現の抑制はしなかった。これは、チオプロリンの投与が誘導型NO合成酵素(iNOS)のよっておこる一連の反応の下流で生成されるペルオキシナイトライト(peroxy nitrite: ONOO<sup>-</sup>)やNO<sup>+</sup>、ニトロソ化合物を捕捉し、発癌が抑制される可能性を示唆するものである。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	475	氏名	熊谷仁見
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>食道腺癌の外因性の発癌要因として十二指腸液を含む胃液の逆流が、また内因性の発癌要因として誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の関与が指摘されている。</p> <p>本研究は、十二指腸液中のニトロソ胆汁酸に強力な発癌作用のあるという仮説と iNOS の発癌への関与を明らかにすべくニトロソ化合物の競合阻害剤である thioproline (TPRO) をラット胃液を含む十二指腸液逆流モデル作成後に投与し、その発癌抑制効果と iNOS の発現について免疫染色を行って検討している。</p> <p>その結果、いくつかのチオプロリン投与群の組織像はコントロール群に類似しているが、粘膜変化はコントロール群に比較してマイルドであった。腺癌は、コントロール群では 7/18(38.9%)であったのに対し、チオプロリン投与群において全く認められなかった。また、iNOS の粘膜における免疫染色では、コントロール群とチオプロリン投与群を比較しても発現に変化はみられなかった。</p> <p>今回の結果は、チオプロリンが iNOS の発現に伴いその下流の代謝産物経路で生成される活性窒素種を捕捉することにより発癌抑制をすることを示唆し、ニトロソ化合物に発癌作用があるという仮説を支持するものであった。</p> <p>本研究は、チオプロリン投与により食道腺癌が抑制されることから、そのメカニズムに胃十二指腸液中に生成されるニトロソ化合物や病変部に発現する iNOS を介した活性窒素種の関与の可能性を示唆したもので、博士 (医学) 授与に価するものと認める。</p>			
(平成 /6 年 2 月 /2 日)			