

胃癌発生要因としての腸上皮化生

渡 辺 敦 光

筑豊博物第40号 (平成7年12月) 別刷

Reprinted from NATURHISTORICA CHIKUHOANA No40

December 1995

胃癌発生要因としての腸上皮化生

渡 辺 敦 光

広島大学原医研予防腫瘍

Intestinal metaplasia as a factor of the gastric tumorigenesis.

Hiroimitsu Watanabe

Department of Cancer Research, Research Institute for
Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University,
Kasumi 1-2-3, Minamiku, Hiroshima, 734, Japan.

はじめに

約2昔前に広島に来て私に与えられたテーマは実験的に腸上皮化生を作成する事でした。それが思う様になかなか出来ず苦勞した日々を過ごしたのがもう遠い過去となり、今では私のライフワークとなってしまいました。何度か本誌で腸上皮化生について述べましたが(本誌 1977, 1978, 1979, 1982, 1987, 1991)、今回は以前のものと一部は重複しますが、その後大分研究に進展がありましたので、今までの実験結果のまとめを述べたいと思います。

腸上皮化生について

10GyのX線を3日間隔で2回合計20Gyをラットの胃部に局所照射をしますと腸上皮化生が生じます。照射1週目に胃粘膜に杯細胞を持つ化生が、2週間後には腸によく似た腺管が出現しますがパネート細胞は持たない腸型腺窩が出現し、8週後にはパネート細胞を持ちアルカリフォスファターゼ(ALP)活性を持つ腸型腺窩が生じます。その後次第に腸上皮化生の数が増加しますが¹⁾、この動物を2年間飼育しても胃癌の発生率は少なく、その胃癌には腸上皮化生の形質はありませんでした²⁾。分割せずに20Gyを1回照射しますと、10%程胃癌が生じ、腸上皮化生の数は分割線量を照射した場合よりも減少します¹⁾。更に20Gy

を1週間間隔で2回合計40Gy照射しますと胃癌や潰瘍が増加し、反対に腸上皮化生が減少します³⁾。この様な理由で私達は10GyのX線を胃部に3日間隔で合計20Gy照射の条件を腸上皮化生を誘発させる標準的方法としています。断らない限りこの照射条件を用います。

腸上皮化生の誘発にはこの標準的照射を行ってもラットの系統により差があります⁴⁾。今まで色々の系統のラットを照射して来ました。同じ名前のラットでも生産している会社が異なりますとX線に対する感受性も異なります。又、ある実験である系統が感受性が高いので数年後にそのラットを再び使用しますと以前の感受性と異なっている事もしばしばあります。その事が実験を開始して半年とか1年後の屠殺時に判明しますので、長い時間をかけたにも関わらずうまく行かなかった実験も多々あり、泣きたくなる事もしばしばありました。でも今からお話します実験は同じ会社の同じ系統の同じ週齢の同じ性のラットを用いて照射し、比較検討を行いました。

一般的には小腸の基底部にあるパネート細胞を持ち小腸の刷子縁の酵素であるALPを持つ吸収上皮が認められ小腸によく似た腸型腺窩(腸上皮化生)が出来易い系統(Crj:CD(SD)ラット、SHR/NCrjラット等、このCrjは日本チャールスリバーと言う会社のラ

ットと言う意味です)と、パネート細胞が無く、ALP活性の無い大腸によく似た腸上皮化生が出来易い系統(Crj:Wistarラット)、その両者が混在する中間型を示す系統、若しくはいずれの腸上皮化生も出来難い系統との4種類に大別出来ます。胃癌を誘発する発癌物質のN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)に高い感受性を持つACIと言うラットの系統にX線を照射しましても腸上皮化生の発生頻度や数は少ない様です。又MNNGに低い感受性を示すBuffaloラットに同様に照射しても腸上皮化生の発生頻度はACI同様に低率でした。この実験から化学発癌物質の感受性と放射線による感受性を決める因子は異なっていると考えています(渡辺、未発表;結果は持っているのですが、未だ学会や論文に発表していない時にこの言葉を使用します)

Crj:CD(SD)ラットは小腸型の腸上皮化生のモデルとして使用します。このラットは1%の食塩餌を与えますとALP活性を持つ化生を増加させます⁵⁾。酸の分泌を止めますとALP活性を持つ化生は増加し⁶⁾、反対に酸の分泌を促進しますとこの様な化生は減少します⁷⁾。最近人の胃癌の話の聞きに行きました。

一人の演者が人の腸上皮化生もある薬剤処理で減少すると言う結果の報告がありました。又腸上皮化生の班会議でも2~3の施設で同じ様な事が報告されました。この結果は私達の実験と良く一致します。動物に起こる事が人にも起こっていましたためにやはり動物実験が必要だと感じました。

腸上皮化生は胃癌の前癌病変とか発生母地と考えている研究者が多いのですが、私達は腸上皮化生は胃癌の前癌病変ではないと言う立場を取っています^{1,5,6)}。そこでいつものプロトコルに従いX線照射後胃の高分化腺癌のプロモータの10%の食塩餌⁸⁾を1年間投与しましたが、胃癌は発生しませんでした⁵⁾。もし腸上皮化生が胃癌の前癌病変でしたら胃癌のプロモータである10%の食塩を与える事

により胃腫瘍が発生しても良いわけですが、胃癌は発生しませんでした。この結果は腸上皮化生が胃癌の前癌病変では無いという事を示唆しています。

人の場合には男性が女性に比べ胃癌や腸上皮化生が多く発生します。しかし閉経後の女性は胃癌や腸上皮化生の頻度が増加します。実験的にも人と同様で雄は雌に比べて腸上皮化生が出来易く、雄に去勢を行いますとその発生率が低下します⁹⁾。精巣摘出を行ったラットに男性ホルモンを与えますとALP活性を持つ腸上皮化生は増加しますし、反対に女性ホルモンを与えますとALP活性を持つ腸上皮化生は減少します。雌の場合にも卵巣摘出を行いますと腸上皮化生が増加しますし、その様な動物に男性ホルモンや女性ホルモンを与えますと雄の去勢したラットと同様な腸上皮化生の発生動向を呈します。この事は男性ホルモンがパネート細胞やALP活性を持つ小腸型の腸上皮化生の誘発を促進している様ですが、反対に女性ホルモンはALP活性を持つ化生を減少させる様です。作用機序としては女性ホルモンは酸の分泌を亢進する働きがありますので以前から考えています作業仮説、即ち、腸上皮化生は胃内の酸度に影響される^{1,5,6)}という考えと一致します。しかしながらこの実験に於いてはALP活性を持たない化生が両性のラットで女性ホルモンにより促進されていますがその作用機序についてはまだ不明です。

この様にラットにX線照射を行う事で腸上皮化生が誘発されますが、マウスに同様に照射しても腸上皮化生は生じませんでした。マウスに腸上皮化生が出来る様になりますと色々な理由で大変実験の効率が良くなりますがまだ良い方法がありません¹⁾。

腸上皮化生とMNNG並びにMNUとの関係

SDラットに作成しました小腸型の腸上皮化生を発癌物質のMNNGで処理し、腸上皮

化生と胃癌との関係を検討しました¹⁰⁾。X線照射を行い腸上皮化生がすでに認められる2ヶ月目よりMNNGを処理した群、X線照射と同時にMNNG処理を行った群、並びにMNNGを与えながら開始2ヶ月目に照射し、その後続けてMNNGを更に2ヶ月合計4ヶ月処理を行った群、もちろんMNNGのみ群、並びにX線単独群を設けました。発癌処理を開始し1年後に122匹の動物を屠殺しました。病理学的観察行いますと胃癌(ラットの胃には腺胃と前胃とがあります、人の胃癌とラットの腺胃の癌と同じです)のある胃には腸上皮化生が少なく、反対に腸上皮化生のある胃には胃癌が少ないと言う結果を得ました。又、胃癌の中やその周囲には腸上皮化生を認めませんでした。

又、人の場合大腸型の腸上皮化生から胃癌が生じると報告されていますので、大腸型の腸上皮化生を誘発するCrj:WistarラットにX線を照射し、2ヶ月後よりMNNGを飲料水として与えましたがこれらのラットでは胃癌の発生率は腸上皮化生の有無で影響受けませんでした¹¹⁾。

更に前述しました様に1%の食塩を与えますと腸上皮化生、特にALP活性を持つ腸上皮化生がSDラットで増加します⁵⁾。WistarラットでもALP活性を持つ腸上皮化生が増加するかどうかを検討する目的で1%の食塩餌を与えました。同時に発癌物質の差で胃癌発生がどの様に異なるかを検討しました¹²⁾。WistarラットにX線を照射し、2ヶ月後に胃癌を誘発するN-methyl-N-nitrosourea(MNU)という発癌物質を飲み水として15週間与えました。この場合にも色々な組み合わせ実験を行いました。例えばX線単独群、X線+食塩群、X線+MNU処理群、X線+MNU+食塩餌の組

み合わせ群、更にMNU単独群、MNU+食塩、食塩単独群、普通餌群等の8群を作ります。一寸少し余計な事をお話します。

ラットの値段は1匹約10,000円する特殊なラットから約2,000円位のラットまで様々ですが、研究費等を考慮して私たちが普段使用するラットは値段の安いラットを使用します。SDやWistarラットは安い方で1匹2,000円ですが、186匹のラットをこの実験に使用しましたので動物代だけでも2,000円×186匹ですから約37万円必要です。餌代や動物のお世話をして下さる方の賃金、発癌物質代等々を考慮に入れますとこの一つの実験を行うために数百万円かかっています。この実験で論文が一つ書く事が出来たので無駄にならずに済みました。この様に一つの論文がいかにか高価であるかお分かり頂けたかと思います。前述しましたが一番辛いことは実験をやっても旨く行かず論文が書けない事です。

論文の値段はこれくらいにして話を元の実験に戻しますが、発癌処理を始めてから1年後に動物を屠殺しました。胃癌を持つ胃には腸上皮化生が少なく、反対に腸上皮化生を持つ胃には胃癌が少ないと言うSDラットのMNNG処理実験と同じ結果が生じました。しかしながらWistarの場合にはSDと異なり腸上皮化生は食塩投与で増大されませんでした。この事は小腸型の化生と大腸型の化生で発生過程に差がある事が示唆されました。

発癌物質の投与方法を変える事により得られる結果も変わって来ますので次にWistarラットにX線照射を行い、その2ヶ月目よりMNUの2mg/1ml溶液を胃チューブを用いて毎週1回強制的に10回投与しました¹¹⁾。この際胃癌のみならず前胃に扁平上皮癌も生じます。しかしながらこの実験の場合でも腸上皮化生は胃癌の発生率に影響を与えませんでした。この事は腸上皮化生の種類や、発癌物質の差、若しくは投与方法を変えても胃癌の発生率が変わらない事を示しています。即ちこの実験でも腸上皮化生と胃癌とは相関関係がない事を示しています。結論としてMNNGやMNU処理により胃からは腫瘍が生じます

が、腸上皮化生からはこれら発癌物質からは胃癌は生じないと言う事を示しています。

次に胃に生じた腸上皮化生の全発生数が少なすぎるために腸上皮化生に発癌物質を処理しても癌化しないのではないかと考えました。そこで大腸粘膜組織を胃の胃底腺部へ移植行いました。始めはそんな実験を行っても多分生着しないのではという批判を受けましたが、

広大医学部第2外科より学位を取りに来ていた中川義基がこの研究を携わりました¹³⁾。彼は実験手技の確率のために色々と苦労した末、移植に成功し、次の様な実験を行いました。F344/DuCrj という系統のラットを使用し、ドナーとしての1匹の動物より大腸の異なった5カ所の部位から大腸粘膜を取り各々を同系の5匹の動物の胃底腺部位へ移植しました。このラットは近交系ですので他の動物に移植しても組織は生着します。生着した大腸は1年後でも胃の環境内で大腸の形質を保っています。手術の影響が無くなる2ヶ月目よりMNNG¹³⁾やMNU(安東, 未発表)

を飲み水として投与しました。胃粘膜には当然の事ながら胃腫瘍が発生しますが移植部位には全く腫瘍が発生しませんでした。即ち胃の環境では腸上皮化生若しくは胃に移植された大腸粘膜はMNNGやMNUの様な発癌物質に対して感受性を示さない事を示しています。秋田大学の成沢等(今回も色々な研究者の仕事引用していますが引用文献としては記載していません)は大腸癌を作る目的で大腸チューブを用いMNNGやMNUを直接注腸した場合に大腸癌が発生するという実験に成功されています。この様な事実より胃チューブを用い1回に大量の発癌物質投与を行なわずと移植部位の粘膜も癌化するかも知れません。

でも前述しました様に腸上皮化生を誘発しMNUを胃チューブで投与しましたところ胃癌は生じませんでした。前胃に扁平上皮癌が誘発されますが、約1cm大の大腸を胃に移植した場合には腸上皮粘膜が多く存在しま

すので移植部位からの癌化の可能性もあるかも知れません。

腸上皮化生とDMH

動物の大腸に腫瘍を発生させる1, 2-dimethyl hydrazine(DMH)と言う発癌物質を皮下に注射しますと一度肝臓で代謝された物質が血中を介して大腸に作用する流れと、一度腸管に出た後大腸に作用するという2つの流れとが考えられています。私たちの仕事ではありませんが次の様な研究を紹介します。まず第一の研究では大腸を小腸に移植し、DMHの代謝産物の1つであるAOM注射しますと、移植部位に腫瘍が生じました。別の実験では大腸を十二指腸に移植し、DMH投与を行いますと移植した大腸粘膜は癌化しました。最後の実験結果は大腸を2/3の長さに切りその端に人工肛門を作りそちらの方に糞が流れる様な手術を行います。残った1/3の大腸は肛門まで糞が通らないようにして、DMHの代謝産物の1つMAMという発癌物質を投与しますと、その結果として、糞等と直接接しない残りの1/3の大腸粘膜に大腸癌が発生しました。この3編の実験結果よりDMH若しくはDMHの代謝産物は血流を介して大腸が存在するところは何処でもあっても大腸粘膜と反応して癌化を起し、一度腸管の外に出た代謝産物と接触しなくても癌化出来ると考えられます。

この様な事実を踏まえて大腸を胃に移植した動物に手術1ヶ月後より20mg/kg体重のDMHを週に1回の割合で20週注射しました。この実験も中川により行われました¹⁴⁾が、彼は114匹の動物を手術し2群に分け、16匹は手術のみ、残りの98匹はDMHを与えました。対照として擬手術を行いDMHのみ投与群を25匹、擬手術のみを行った群14匹の動物を用

意しました。その結果は当然の事ながらDMH単独群や移植+DMH群の大腸には多
並びに72%に腫瘍が発生し

各々88%並びに46%腫瘍が生じましたが、当然の事です。DMHを与えていない動物にはこの様な腫瘍は全く生じません。病理診断を行い手術+DMH群で60匹、手術のみ群で14匹が移植に成功していました。手術+DMH群では移植部位の47匹の移植片に腫瘍が生じました。勿論手術のみ群では腫瘍は生じませんでした。この事は大腸の粘膜が小腸や胃にとどこに移植されていても大腸の形質を持っている限りDMHの癌化に対する感受性が保たれている事実を示しています。

そこで再度腸上皮化生に戻り同じ様な実験を計画しました¹¹⁾。即ち5週齢の雄Wistarラットの胃部にX線を照射し、2ヶ月後に20mg/kg体重のDMHを週に1回合計20回投与しました。DMH投与開始からかなり早い時期から動物が下痢等の症状を呈し、弱って来ましたので屠殺しました。剖検しますとその様な動物の大腸には腫瘍が多発していました。MNNGやMNUを経口投与を行った動物では平均300日以上生存するのですが、このDMH投与の平均生存日数は約175日前後の生存期間でした。X線+DMH群では26匹中25匹

(96%)に、DMH単独群では26匹中21匹(81%)に大腸癌が発生しました。小腸の腫瘍も各々46%並びに34%発生しました。しかしいずれの場合にも胃の腫瘍は全く認められませんでした。多分発癌処理が強力なために胃に腫瘍が出てくる前に動物が大腸癌が発生し死へ至らしめ、胃癌発生まで至らなかったのではと考えました。

そこでより強い腸上皮化生を誘発させてあまり強くない発癌処理を行って見ようと考えました。この研究は主に広原医研外科より学位取得のための研究に来た安東保海が受け持ちました¹⁵⁾。5週齢の雄SDラットの胃部にX線で腸上皮化生を誘発させます。1%の食塩餌を与えますとより多くの腸上皮化生が生じます⁵⁾ので照射後食塩餌を与えました。勿論DMHを単独処理群にも比較の意味で食

塩餌を与えます。X線照射2ヶ月後より、20mg/kg体重のDMHを1週間に1回、今回は以前の半分10回だけ投与しました。一番早い大腸癌はDMH処理開始後50日目でもう既に認められましたが平均生存日数はDMH単独群で270日で、X線+DMH群では244日でした。DMH単独群で大腸腫瘍の発生率は23匹中16匹で70%、X線+DMH群でも30匹中16匹でやはり70%でした。この結果は発癌物質投与を少なくした為に発生率が減少し以前の実験より少し長生きしたのではないかと考えています。1匹当たりの大腸腫瘍の数はDMH単独群の2.3個に対しX線+DMH群で1.5個と以前の実験と比較すると発癌物質投与回数の減少で1匹当たりの大腸癌の数が減少し、又腫瘍の大きさも同様な傾向を示しました。面白いことに印環細胞癌はX線+DMH群で39%、DMH単独群で19%と癌細胞の形態的な差が認められました。しかしながらこの差がなぜ生じたのかは不明ですのでここではこれ以上触れない事にします。小腸の腫瘍はDMH単独群で52%、X線+DMH群で30%でした。大変興味ある事実として、X線+DMH群でDMH開始後254日目並びに321日目に剖検した2匹の動物に合計3病巣に胃の腫瘍が発生しました。しかしDMH単独群の胃にはその様な病変は認められませんでした。この胃の病巣には腸の形質としての杯細胞は有りませんでした。一般に腸が癌化する時、まず杯細胞が消失し、粘液が消えますので、X線とDMH群で生じた胃の腫瘍は腸上皮化生を基盤としているのではないかと考えられます。又、胃や腸の形質をすなわちALP活性や胃の形質を表すペプシノーゲン活性等を調べて見ましたが陰性でした。

この実験で始めて腸上皮化生から胃腫瘍が生じた事になります。私たちはこの結果を見て飛び上がって喜びました。待ちに待った結果が出たのです。この結果が出るまで約20数年の歳月がかかった事になります。人の実験

では腸上皮化生から高分化型の胃癌が発生すると多くの研究者が報告しています。その大部分の報告は西欧から出ています。欧米では大腸癌の発生が多いわけですので、仮に腸上皮化生の人がいてDMH様の発癌物質が腸上皮化生に作用して胃癌を起こしたのではないかと考える事が出来ます。それら胃癌は発生母地としての腸上皮化生の形質を持っていても不思議ではないと考えたと旨く説明が出来ます。胃癌の中には腸の形質を持つ胃癌もありますから、この様な胃癌が存在してもおかしくは有りません。ただ胃癌が出来その後に腸の形質を獲得する場合がありますので、この点も考慮に入れる必要が有ります。でも胃癌発生のメインルートは胃粘膜がMNNGやMNUの様な発癌物質から発生すると考えた方が素直です。ほんの一部の胃癌が腸上皮化生を発生母地として、DMH型の発癌物質より生じるルートも存在するのではと考えています。でも何度も述べましたが腸上皮化生は胃癌の前癌病変とは考えられませんが発生母地であると考えられるのではと思いはじめています。

おわりに

始めて腸上皮化生から胃腫瘍が発生しました。その頻度は大変少ない数ですが実験的に始めて成功しました。この実験を通して腸上皮化生から胃癌が生じる場合の可能性を示唆しました。この研究をもう少し伸ばす事により今まで疫学的に述べられている事を証明出来るのではと考えています。

参考文献

1. 渡辺敦光, 広大原医研年報, 29, 193-216, 1988.
2. 渡辺敦光他 広島医学. 印刷中
3. Watanabe, H., et. al. Jpn. J. Cancer Res., 78, 27-31, 1987.
4. Watanabe, H., et. al. Acta Pathol. Jpn., 35, 569-576, 1985.
5. Watanabe, H. et. al., Jpn. J. Cancer Res., 83, 1267-1272, 1992.
6. Watanabe, H., et. al. Acta Pathol. Jpn., 38, 1285-1290, 1988.
7. Watanabe, H., et. al. Jpn. J. Cancer Res., 83, 588-593, 1992.
8. Watanabe, H., et. al. Jpn. J. Cancer Res., 84, 1037-1042, 1993.
9. Watanabe, H., et. al. Acta Pathol. Jpn., 43, 456-463, 1993.
10. Watanabe, H. and Ito, A. J. Natl. Cancer Inst., 76, 865-870, 1986.
11. Watanabe, H., et. al. Oncol. Rep., 1, 497-501, 1994.
12. Watanabe, H., et al. Jpn. J. Cancer Res., 85, 892-896, 1994.
13. 中川義基他, 広大原医研年報, 28, 229-234, 1987.
14. Nakagawa, Y., et. al., Jpn. J. Cancer Res., 83, 24-30, 1992.
15. 安東保海他, 日本癌学会総会記事, 53, 79, 1994.