

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20790484
 研究課題名（和文）食道内腔で発生する高濃度一酸化窒素によるバレット食道・腺癌発生の検討
 研究課題名（英文） High concentration of nitric oxide generated lumenally could be involved in carcinogenesis in the region of gastro-esophageal junction.
 研究代表者
 浅沼 清孝 (ASANUMA KIYOTAKA)
 東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
 研究者番号：10431553

研究成果の概要（和文）：本研究は食道・胃接合部内腔（EGJ）で発生する高濃度一酸化窒素（NO）が同部位の炎症や発癌に及ぼす影響を評価することを目的とした。モルモットを用いた検討で胃噴門部組織中ミトコンドリア DNA の酸化を認めた。またラットを用いた慢性逆流性食道炎モデルでの検討では NO がバレット食道発生を促進した。ヒトにおいて EGJ 周囲組織は生涯を通じて NO による酸化ストレスに暴露されることから同部位での発癌に影響を与える可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）:The incidence of cancer of gastro-esophageal junction (GE junction) is increasing in Western countries and Gastroesophageal reflux disease, its resultant Barrett's esophagus (BE) and chronic inflammation in GE junctional tissues are considered to its cancer risk due to the chronic irritation of the mucosal lining. But the pathogenesis of this type of cancer is poorly understood. At the human GE junction, nitric oxide is generated lumenally through the entero-salivary re-circulation of dietary nitrate. The aim of this study is to investigate whether the NO lumenally generated at GE junction could involved cancer development at that site. Animal models using a guinea pig and a rat surgical model of BE were applied in this study. In the current study, Oxidative stress of mitochondrial DNA was occurred in the tissue of gastric cardia in the nitrate-administered guinea pigs. Moreover, columnar transformation of the esophagus was accelerated in the nitrite-administered rat BE models. High concentration of nitric oxide lumenally generated at GE junction could involved inflammation and subsequent development of neoplastic tumors at that site.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・上部消化管学（食道、胃、十二指腸）

キーワード：1. 食道・胃接合部 2. 一酸化窒素(NO) 3. 逆流性食道炎 4. バレット食道
5. バレット腺癌 6. 食道・胃接合部癌 7. 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

近年、欧米で噴門部癌・バレット腺癌などの食道・胃接合部癌の増加している。同部での発癌の発生源として、消化管内容物の食道内逆流（GERD）に起因するバレット食道が上げられるが、本邦において GERD と共に食道・胃接合部癌の増加が報告されてきた。しかしその病態については不明な点が多く検討すべき点が数多く残されている。

飯島らの報告によると、ヒトにおいて野菜など硝酸塩を多く含む食物の摂取後に食道・胃接合部内腔で $50 \cdot M$ に達する高濃度一酸化窒素 (NO) が発生することが明らかとなった。これは硝酸塩を多く含む食物を摂取すると、唾液中に数時間にわたり再分泌され口腔内細菌によって亜硝酸塩に変換される。唾液とともに嚥下されたこの亜硝酸塩は食道・胃接合部でアスコルビン酸を含む強酸性の胃液と瞬時に反応し、大量の NO が同部位に局限して発生することの依るものである。この硝酸塩は、土壌を含む自然界に広く分布しており、近年、化学肥料の過剰投与や温室栽培によって植物体中に貯留することが指摘され、摂取する硝酸塩の増加と健康への影響が懸念されている。更に NO は低濃度では細胞保護に作用するが、高濃度では細胞傷害性を持ち炎症や発癌に関与することが報告されている。

これまでの研究で、食道・胃接合部内腔で発生する NO の周囲組織に及ぼす影響を評価する為に、ヒトにおける同様の現象を再現する動物モデルを作成し検討してきた。ラットにヒトの生理的範囲内の亜硝酸塩とアスコルビン酸を同時に投与し、食道・胃接合部内腔で限局性に NO を発生させると、この NO は周囲組織へ拡散し、その上皮粘膜層において誘

導型 NO 合成酵素 (iNOS) 由来の NO に匹敵する高濃度に達すること、また同部位で生体内において主要な抗酸化物質である還元型グルタチオンの減少が認められることを見いだした。更にヒトにおいて、硝酸塩内服後に食道・胃接合部周囲組織への NO の拡散を実際に測定し同部位における酸化ストレスの可能性を報告した。NO は生体内で様々な作用を有していることが知られているが、高濃度では細胞障害や DNA の変異誘発要因と成りうることを示されていることから、食道・胃接合部内腔で発生する高濃度の NO が同部位の障害を引き起こし、慢性炎症、更に発癌の原因になりうると考えられる。

また NO の発生部位は胃酸と亜硝酸塩を含む唾液が初めて接する部位であるため、食道内に胃酸が逆流する GERD 患者において、唾液中の亜硝酸塩との反応が食道・胃接合部より口側に移動し高濃度の NO が食道内で発生すると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は食道・胃接合部内腔で発生する NO が同部位周囲組織へ与える影響を評価し、慢性炎症やバレット食道発生、更に同部位での発癌に関与するかについて検討することである。

3. 研究の方法

食道・胃接合部癌は胃噴門部から発生する噴門部癌とバレット食道を発生母地とするバレット腺癌に分けて検討した。しかしヒトと違いラットは口腔内での硝酸塩-亜硝酸塩変換能が低く、また食道・胃接合部が扁平上皮から構成される前胃を有することから、胃噴門部に与える影響を評価する

ことが難しい。そこで同部位における実験は、ヒトと同等の硝酸塩-亜硝酸塩変換能を有し円柱上皮の噴門部を有するモルモットを用いた実験を行った。

実験1：モルモットに生理的範囲内の硝酸塩を食餌に混ぜて投与し食道・胃接合部内腔でNOが発生するモデルを作成し、同部胃側の噴門周囲組織に与える影響を評価した。

実験2：ラットを用いた慢性逆流性食道炎・バレット食道モデルを作成し、経口的に亜硝酸塩を投与、バレット食道発生に与える影響を評価した。

4. 研究成果

(実験1：胃噴門部炎と発癌への影響) モルモットに硝酸塩を多く含む食餌を与えたところ、ヒトと同様に硝酸塩の腸肝循環により唾液中の亜硝酸塩が数 mM まで増加が認められた。また、噴門部において炎症細胞の浸潤と細胞増殖の更新を、さらに組織中ミトコンドリア DNA の酸化を認めた。NOは活性酸素が多く存在するミトコンドリアにおいてこれと反応し、より反応性が強い活性窒素酸素種の生成を介して細胞障害を引き起こすと考えられた。食道・胃接合部内腔で発生したNOがミトコンドリア DNA の変異を引き起こし発癌につながる可能性が考えられた。

(実験2：バレット食道発生への影響) ラットを用いた慢性逆流性食道炎・バレット食道モデルを作成し、経口的に亜硝酸塩を投与、食道・胃接合部でNOを発生(NO群)させたところ、コントロール群と比べバレット食道発生率が有意に高率であった。また、NO群で発生したバレット食道の面積もコントロール群と比較し有意に広範囲であった。しかし両群における逆流性食道炎はNO群で高度であったもののその差は比較的少なくNOによる炎症の促進以外に、細胞の分化誘導に影響を与えた可能性が考えられた。食道・胃接合部内腔で発生したNOはバレット食道発生を促進することを証明した。バレット食道はバレット腺癌のリスクファクターであることから同部での発癌に深く関与するとが示唆された。

本検討で、食道・胃接合部内腔で発生する

高濃度NOが同部位での炎症、バレット食道発生と発癌に深く関与することを証明できた。本邦でも将来その増加が危惧される中、今回明らかとなった病態メカニズムを抑制しうる薬剤や治療法の開発が発癌防止に寄与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

1. Endo H, Asanuma K. et. al. *Endogenous luminal nitric oxide exposure accelerates columnar transformation of rat esophagus.* (In press) *Int J Cancer.* 2010 Feb 3. (査読あり)
2. Ito H, Asanuma K. et. al. *Reactive nitrogen oxide species induce dilatation of the intercellular space of rat esophagus.* *Scand J Gastroenterol.* 2010 Mar;45(3):282-91. (査読あり)

[学会発表] (計10件)

1. 浅沼清孝, 食道胃接合部内腔で発生するNOと周囲組織での炎症・発癌との関係
第95回 日本消化器病学会総会: H21年5月7日 札幌
2. 遠藤 博之 浅沼清孝, 外因性NOによるバレット食道に対する影響について
第95回 日本消化器病学会総会: H21年5月8日 札幌
3. Endo H, Asanuma K. et. al. *Nitric Oxide Generated Luminally at the Gastroesophageal Junction Could Have Promotive Effect on Development of Barrett's Esophagus.*
DIGESTIVE DISEASE WEEK 2009
H21年6月1日 Chicago, USA
4. Ito H, Asanuma K. et. al. *Luminal Nitric Oxide Provoked Dilated*

Intercellular Spaces in Esophageal Epithelium of Rats.

DIGESTIVE DISEASE WEEK 2009

H21年6月2日 Chicago, USA

5. 遠藤 博之 浅沼 清孝, 外因性NOによるバレット食道発生に対する影響について
第51回 日本消化器病学会大会 H21年10月14日 京都
6. 伊藤 博敬 浅沼 清孝, 食道粘膜上皮の防御機構に対する一酸化窒素の影響
第51回 日本消化器病学会大会 H21年10月14日 京都
7. 遠藤 博之 浅沼 清孝, 外因性NOによるバレット食道発生に対する影響について
GERD研究会 第14回学術集会 H21年11月21日 東京
8. Endo H. Asanuma K. et. al. *Nitric Oxide generated luminally at GOJ could have promotive effect on development of Barrett's esophagus.*
16th United European Gastroenterology Week H20年10月29日, Vienna Austria
9. 遠藤 博之 浅沼 清孝, 外因性NOによるバレット食道発生に対する影響について
第51回 日本消化器病学会大会 H20年10月1日 東京
10. 伊藤 博敬 浅沼 清孝, 食道内腔で発生する一酸化窒素の食道粘膜上皮細胞間隙に対する影響
第51回 日本消化器病学会大会 H20年10月2日 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅沼 清孝 (ASANUMA KIYOTAKA)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：10431553