

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790385

研究課題名(和文)：ミトコンドリア DNA 突然変異解析を用いた Barrett 腺癌の組織発生の解析

研究課題名(英文)：Histopathological study of Barrett's adenocarcinoma using analyses of mitochondrial DNA mutations

研究代表者

向所 賢一 (MUKAISHO KENICHI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：50343223

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ミトコンドリア DNA 突然変異解析を用いて、Barrett 食道から食道腺癌の発生過程を明らかにすることである。ラット十二指腸液逆流モデル(以下逆流モデル)に発生した各種病変(Barrett 食道、食道腺癌、扁平上皮の異形成、扁平上皮癌など)におけるミトコンドリア DNA 突然変異の有無を Cytochrome c oxidase の免疫染色と酵素組織化学染色により検討した。逆流モデルは、胃-食道接合部を切離し、食道-上部空腸を端側吻合したものを用いた。これまで、我々は、高脂肪食の摂取により、胆汁中の胆汁酸分画が変化し、タウリン抱合胆汁酸が増加することを報告した。このタウリン抱合胆汁酸が、食道に逆流した際に食道粘膜の障害が強くなり、Barrett 食道から食道腺癌の発生率が増加することを同時に報告した(Chen KH, et al. Cancer Science, 2007)。よって、本研究でも、逆流モデルを高脂肪食(Quick fat, containing 13.9% cow fat, CLEA)摂取群と、普通食群(4.80% soybean oil)の2群にわけ、手術後 10、20、30 週にて屠殺後に食道を摘出、各種食道病変に対して Cytochrome c oxidase 活性の有無を検討した。Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、ミトコンドリア DNA 突然変異の際に認められる。本研究では、Barrett 粘膜に見られる Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、手術後の時間の経過とともに増加した。また、Cytochrome c oxidase 陰性細胞数は、高脂肪食群の方が、普通食群よりも多い傾向が見られた。また、Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、Barrett 食道の増殖帯に一致して出現し始めることが認められ、腸杯細胞を有する Barrett 食道は、大腸粘膜と同様に crypt fission によって増殖、伸展することが示唆された。また、Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、Barrett 粘膜ではない、炎症性の重層扁平上皮においても認められた。しかし、ミトコンドリア DNA 突然変異と発癌との因果関係については明らかにできなかった。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the histogenesis of Barrett's esophagus (BE) progressing to esophageal adenocarcinoma (EAC), we examined mitochondrial DNA mutations and performed immunohistochemical staining and enzyme histochemistry of cytochrome c oxidase in various lesions (BE, EAC, squamous dysplasia, and squamous cell carcinoma). These lesions were induced in rat duodenal contents reflux models, which were previously reported models that had undergone esophagojejunostomy without gastrectomy. Previously, we reported that high dietary animal fat alters bile acid composition by increasing the concentration of taurine conjugates in bile. These increased bile acids promote the development of BE and Barrett's dysplasia progressing to EAC. In the present study, the reflux animal models were divided into two groups on the basis of their diet. The standard diet group was fed with a low soybean oil diet (CE-2) and the high-fat group was fed with a high cow fat diet (Quick Fat). The animals that survived the operation were sacrificed at postoperative weeks 10, 20, and 30. Cytochrome c oxidase was analyzed in the resected esophagi by both immunohistochemical staining and enzyme histochemistry. Cytochrome c oxidase-negative foci were detected in cases that demonstrated mitochondrial mutations, and these foci increased in a time-dependent manner. A significantly higher number of foci were observed in the high-fat group compared with the standard diet group. We observed that cytochrome c oxidase-negative foci first appeared in the proliferative zone of BE with goblet cells, and then proliferated in a manner similar to crypt fission of intestine. These foci were also detected in the normal regenerative squamous epithelium. However, we could not demonstrate the relationship between BE carcinogenesis and mitochondrial mutations.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：Barrett 食道、ミトコンドリア DNA、ラット逆流モデル、突然変異解析

1. 研究開始当初の背景

これまで、我々は、ラット胃・十二指腸液逆流モデルを用いて、Barrett 腺癌の組織発生や発癌因子について数多くの報告を行ってきた。中でも高脂肪食の摂取により、胆汁中の胆汁酸分画が変化し、タウリン抱合胆汁酸が増加することを報告した。このタウリン抱合胆汁酸が、食道に逆流した際に食道粘膜の障害が強くなり、Barrett 食道から食道腺癌の発生率が増加することを同時に報告した。今回用いるミトコンドリア DNA 突然変異解析は、消化管を含め多くの臓器で組織発生やクローン解析に用いられるようになってきている手法である。

2. 研究の目的

ミトコンドリア DNA 突然変異解析をラット胃・十二指腸液逆流モデルに発生する各種病変において行うことにより、Barrett 食道から食道腺癌の発生過程を明らかにすることである。

3. 研究の方法

ミトコンドリア DNA 突然変異の有無を Cytochrome c oxidase の免疫染色と酵素組織化学染色により検討した。逆流モデルは、胃-食道接合部を切離し、食道-上部空腸を端側吻合したものを用いた。逆流モデルを高脂肪食 (Quick fat, containing 13.9% cow fat, CLEA) 摂取群と、普通食群 (4.80% soybean oil) の 2 群にわけ、手術後 10、20、30 週にて屠殺後に食道を摘出、各種食道病変に対して Cytochrome c oxidase 活性の有無を検討した。

4. 研究成果

Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、ミトコンドリア DNA 突然変異の際に認められる。本研究では、Barrett 粘膜に見られる Cytochrome c oxidase

陰性細胞は、手術後の時間の経過とともに増加した。また、Cytochrome c oxidase 陰性細胞数は、高脂肪食群の方が、普通食群よりも多い傾向が見られた。Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、Barrett 食道の増殖帯に一致して出現し始め、腸杯細胞を有する Barrett 食道は、大腸粘膜と同様に crypt fission によって増殖、伸展することが示唆された。また、Cytochrome c oxidase 陰性細胞は、Barrett 粘膜ではない、炎症性の重層扁平上皮においても認められた。しかし、ミトコンドリア DNA 突然変異と発癌との因果関係については明らかにできなかった。

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 3 件)

- 1) Ling ZQ, Mukai K, et al. Initiation of malignancy by duodenal contents reflux and the role of ezrin in developing esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Sci. 101:624-630. 2010 (査読有)
- 2) 向所賢一, ら; Barrett 食道の発生起源は何か-実験病理からみて- 分子消化器病 7: 7-14. 2010 (査読無)
- 3) 向所賢一, ら; 病理医からみた Barrett 粘膜と Barrett 腺癌-米国人に多い LSBE とわが国に多い SSBE の組織型の違いについて. G.I. Research 18: 13-18. 2010 (査読無)

〔学会発表〕（計 5 件）

- 1) 向所賢一, ら; ラット胃・十二指腸液逆流モデルの下部食道に発生する化生円柱上皮の組織発生. 第 83 回日本胃癌学会総会, 三沢市, 2011
- 2) Mukaisho K, et al. Initiation of malignancy by duodenal contents reflux and the role of ezrin in developing esophageal squamous cell carcinoma. 第 6 回国際消化器癌発生学会, ヒューストン, 2011
- 3) Mukaisho K. Pathogenesis and molecular mechanism of Barrett's carcinogenesis. 第 10 回国際食道会議, ボストン, 2010
- 4) Mukaisho K, et al. Initiation of malignancy by duodenal contents reflux and the role of ezrin in developing esophageal squamous cell carcinoma. 第 8 回日本癌学会・AACR 合同会議, ハワイ島, 2010
- 5) 向所賢一, ら; Short segment Barrett esophagus の発生過程 -新しい胃食道逆流症新刊モデルからの知見-. 第20回日本消化器癌発生学会総会, 広島, 2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

向所 賢一 (MUKAISHO KENICHI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：50343223