

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460924

研究課題名(和文) エストロゲンによる逆流性食道炎、バレット食道発生に対する抑制効果の機序の解明

研究課題名(英文) Estrogen enhances esophageal barrier function by potentiating occludin expression

## 研究代表者

飯島 克則 (Iijima, Katsunori)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60375003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：食道腺癌は男性優位に発現する予後不良な悪性疾患であり、その前駆状態であるバレット食道、逆流性食道炎の発現も男性で多いことが知られている。その要因の一つに、女性ホルモンであるエストロゲンがこれら一連の食道疾患に対して抑制的に作用していることが考えられている。今回の検討では、ウサギ食道粘膜のバリア機能とエストロゲンとの関係を検討した。その結果、エストロゲンは細胞間接着蛋白であるoccludinの発現を調整し、食道粘膜バリア機能を増強させている可能性が示唆された。そして、男女における食道バリア機能の違いが、逆流性食道炎、さらにはバレット食道や食道腺癌の男性優位性を導いていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We recently demonstrated that a female sex hormone, estrogen, suppressed esophageal epithelial injury in a reflux esophagitis model of rat, suggesting that estrogen may play an important role in controlling the progress of the gastro-esophageal reflux disease spectrum. In this study, we investigated the potential role of estrogen in the esophageal barrier function. Estrogen pretreatment significantly attenuated the decrease in the transmembrane resistance and the increase in the epithelial permeability induced by luminal irritants. The dilation of the intercellular space induced by luminal HCl was significantly alleviated by 17 $\beta$ -estradiol administration. The baseline occludin expression was significantly potentiated by 17 $\beta$ -estradiol administration. This is the first study showing an enhancement of the esophageal barrier function by 17 $\beta$ -estradiol administration. The lack of the protective effect of estrogen could be responsible for the male predominance of erosive reflux esophagitis.

研究分野：消化器内科

キーワード：エストロゲン 逆流性食道炎

### 1. 研究開始当初の背景

食道腺癌は男性優位に発現する予後不良な悪性疾患であり、その前駆状態であるバレット食道、逆流性食道炎の発現も男性で多いことが知られている。その要因の一つに、女性ホルモンであるエストロゲンがこれら一連の食道疾患に対して抑制的に作用していることが考えられている。しかし、エストロゲンが食道粘膜に保護的作用を与える具体的な機序については未だ十分に解明されていない。

### 2. 研究の目的

ウサギ食道粘膜のバリア機能とエストロゲンとの関係を *ex vivo* の Ussing chamber を用いたモデルによって検討する。さらに、食道上皮の細胞間隙微細構造に対するエストロゲンの影響について、透過型電子顕微鏡を用いた形態学的評価、および Western blotting による tight junction 蛋白の検討を行う。

### 3. 研究の方法

雄性ウサギの食道を摘出し、粘膜層のみを Ussing chamber の中央に挟み、電気生理学的検討および透過性の検討を行った。その際、エストロゲンが食道粘膜に与える影響を検討するために、Ussing chamber による検討 14 日前に、ウサギ皮下組織に 17 $\beta$ -estradiol (10mg / pellet, 21-day release) もしくは placebo を投与した。Ussing chamber に接続した循環リザーバーの管腔側には塩酸 (pH 2.0) 亜硝酸塩 (5.0 mM, pH 2.0) Krebs buffer (pH 7.4) のいずれかを還流し、また基底側には全ての条件で krebs buffer (pH 7.4) を還流し、経時的なバリア機能の変化を粘膜抵抗値およびフルオレセインによる粘膜透過性から評価した。その後、塩酸 (pH 2.0) 暴露前後の組織を用いて、細胞間隙距離の測定、

細胞間接着構造である tight junction 蛋白 (occludin、claudin-1、claudin-4) の発現を検討した。

### 4. 研究成果

17 $\beta$ -estradiol を投与した食道粘膜において、各刺激前の食道粘膜抵抗値およびフルオレセイン透過性は placebo を投与した組織と比較し明らかな差は認めなかった。それにもかかわらず、塩酸および亜硝酸塩投与に伴う経時的な粘膜抵抗値の低下およびフルオレセイン透過量の増加は、17 $\beta$ -estradiol 群でその変化が有意に抑制された (図 1)。

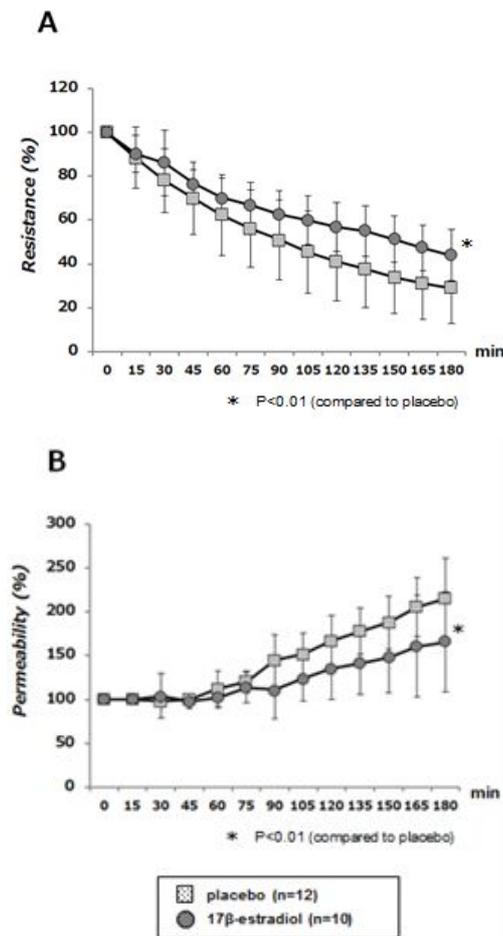


図 1 : エストロゲンと食道粘膜バリア機能との関係 : Ussing chamber の管腔側に塩酸 (pH 2.0) を還流し、粘膜バリア機能の変化を placebo 群 (n=12) 17 $\beta$ -estradiol (n=10) で比較した。(A) placebo 群、17 $\beta$ -estradiol 群ともに経時的な粘膜抵抗値の低下が認められたが、17 $\beta$ -estradiol 群においてその変化が抑制された (P<0.01)。測定開

始 180 分における抵抗値低下の割合は、placebo 群 72%、17 $\beta$ -estradiol 群 56%、であった。(B) placebo 群、17 $\beta$ -estradiol 群ともに経時的なフルオレセイン透過量の増加が認められたが、17 $\beta$ -estradiol 群においてその変化が抑制された (P<0.01)。

また、17 $\beta$ -estradiol 群と placebo 群の細胞間隙距離の比較では、17 $\beta$ -estradiol 群において酸暴露後の細胞間隙距離が狭く、細胞同士が密に接着する形態が示された。tight junction 蛋白である occludin は 17 $\beta$ -estradiol 投与により蛋白の増加が認められ(図2)、claudin-1、claudin-4 には有意な変化は認められなかった。

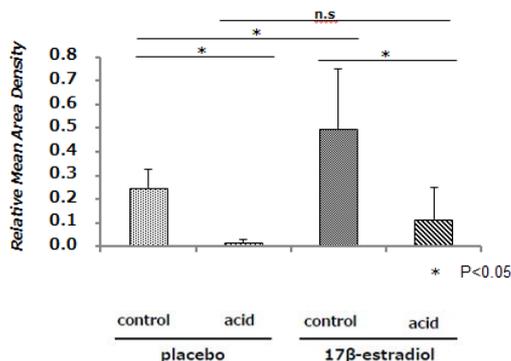


図 2 : 塩酸暴露、エストロゲン全身投与による食道粘膜 occludin 発現に及ぼす影響

17 $\beta$ -estradiol 群において食道粘膜の occludin 発現が有意に増加した(P<0.05)。また、placebo 群、17 $\beta$ -estradiol 群ともに塩酸 (pH 2.0) 暴露に伴い有意な occludin の減少を認めた (P<0.05)。

**【結論】**エストロゲンは tight junction 蛋白である occludin の発現を増加することで食道粘膜のバリア機能を増強し、酸や亜硝酸塩などの化学的刺激に対して保護的に作用している可能性が示唆された。そして、男女における食道バリア機能の違いが、逆流性食道炎、さらにはバレット食道、食道腺癌の男性優位性を導く一因となる可能性が考えられた。つまり、エストロゲンが食道粘膜に対して保護的に作用するメカニズムを理解す

ることは、食道腺癌への進展を抑制する上で有益であ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. Honda J, Iijima K, Asanuma K, Ara N, Shiroki T, Kondo Y, Hatta W, Uno K, Asano N, Koike T, Shimosegawa T. Estrogen Enhances Esophageal Barrier Function by Potentiating Occludin Expression. *Dig Dis Sci*. 2016 Apr;61(4):1028-38. 査読あり。
2. Iijima K, Shimosegawa T. Involvement of luminal nitric oxide in the pathogenesis of the gastro-esophageal reflux disease spectrum (review). *J Gastroenterol Hepatol*. 2014;29(5):898-905. 査読あり。

〔学会発表〕(計 1 件)

Honda J, Iijima K, Asanuma K, Ara N, Shiroki T, Kondo Y, Hatta W, Uno K, Asano N, Koike T, Shimosegawa T. Estrogen Enhances Esophageal Barrier Function by Potentiating Occludin Expression. 2015年5月16日~5月19日、ワシントン D.C.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

飯島 克則 (IIJIMA Katsunori )  
秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・  
教授  
研究者番号：60375003

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：