

平成 30 年 4 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10090

研究課題名(和文)慢性炎症を背景とした食道発癌におけるアラキドン酸カスケードの制御と発癌抑制効果

研究課題名(英文)The chemoprevention of esophageal carcinogenesis with chronic inflammation by the suppression of lipoxigenase

研究代表者

尾山 勝信(Oyama, Katsunobu)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：70460350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：バレット上皮発生率はコントロール群；94%、برانلکاست群；69%、食道腺癌発生率はコントロール群；69%、برانلکاست群；15%、いずれもبرانلکاست投与で有意に抑制された。組織増殖活性はبرانلکاست投与で抑制され、アポトーシス増加した。浸潤マクロファージはبرانلکاست群で減少していた。

برانلکاست投与により、バレット上皮・食道腺癌の発生が抑制された。LOX阻害により消化液逆流に伴う慢性的な炎症状態を抑制することが、発癌抑制につながったと考えられる。炎症細胞の中でも特にマクロファージの浸潤が抑制されていた。マクロファージによる過剰な組織増殖刺激が発癌要因の一つと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The incidence of Barrett's epithelium in control group was 94%, in pranlukast group; 69%, the incidence of esophageal adenocarcinoma in control group; 69%, pranlukast group; 15%. Both of Barrett's epithelium and esophageal adenocarcinoma generation were significantly suppressed by pranlukast administration. Pranlukast administration suppressed tissue growth activity and increased apoptosis. Infiltrating macrophages were reduced by pranlukast administration.

The administration of pranlukast suppressed the generation of Barrett's epithelium and esophageal adenocarcinoma. Suppression of chronic inflammatory condition by LOX inhibition lead to suppression of carcinogenesis. Moreover, infiltration of macrophages was particularly suppressed among inflammatory cells. Excessive stimulation of tissue growth by macrophages was considered to be one of carcinogenic factors.

研究分野：消化器外科学

キーワード：食道発癌 炎症発癌 ラットモデル LOX

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症が、がんを含め多くの疾患の基盤状態となることが明らかとなっている。組織微小環境が慢性炎症に伴い向腫瘍化に傾くことが原因とされ、炎症性サイトカインや転写因子の活性化、炎症性酵素の発現、さらにはマクロファージなどの浸潤細胞とのクロストークなどの多様な要因が、がんの発生/進展に関与しているとされる。慢性炎症の原因そのものを改善することは困難であり、過剰な炎症反応をコントロールすることが重要と考えられる。

我々は、慢性炎症により食道発癌をきたすラット消化液逆流モデルを用いて種々の検討を行ってきた。消化液食道逆流によるラット発癌モデルは、発癌剤を用いずに自然発癌する実臨床に近いモデルと考えている。消化液逆流により、経時的に発癌が増加する。食道上皮の持続的な消化液暴露に伴う慢性炎症を要因として、化生性変化(バレット上皮)をきたし、さらには発癌にいたる食道炎-バレット化生-発癌 sequence が発癌の原因であることを解明してきた。

炎症刺激により細胞膜のリン脂質成分であるアラキドン酸が細胞膜より遊離する。遊離アラキドン酸を材料として脂質メディエーターを作る代謝経路がアラキドン酸カスケードと呼ばれている。上皮細胞増殖や腫瘍発現に関与するとされるが、その全貌は明らかとはなっておらず、不明な点も多い。COX 経路と LOX 経路に大別される。アラキドン酸カスケードの種々の代謝産物が炎症性疾患やがん発症/進展に関与することが注目されている。我々も以前よりアラキドン酸カスケードに着目し、COX-2 阻害剤の予防的投与による食道炎-バレット化生-発癌 sequence の抑制を証明した。残念ながら COX2 阻害剤は心血管系毒性のため臨床応用にはいたらなかった。慢性炎症によるアラキドン酸代謝の活性化に伴う LOX 経路の代謝産物が発癌に関与するとされている。特に 5-LOX 経路の代謝産物である LTB4 は炎症を促進し細胞増殖の活性化やアポトーシスの抑制に関与することが報告されている。LTC4 (CysLT) は炎症性サイトカインやケモカイン産生を誘導する。5-oxoETE は PPAR を介して細胞生存に関与するとされている。5-LOX 阻害を行うことにより、抗炎症/抗腫瘍作用が期待される。

2. 研究の目的

食道炎-バレット化生-発癌 sequence における LOX 経路の関与を明らかとし、その阻害による効果と作用機序の検討を行う。

3. 研究の方法

胃十二指腸混合液食道逆流ラットモデルを作成：食道胃接合部を切離し、胃噴門部を縫合閉鎖した後に空腸を起始部から約 20mm の部位で食道の断端に端側吻合する。

術後ラットをランダムに control (普通飼料摂取) 群と planlukast (5-LOX 阻害剤配合飼料摂取) 群に振り分ける。pranlukast 群では術後 1 週間目より屠殺まで planlukast を配合した飼料を投与する。

各群とも継時的に屠殺し、食道を摘出しホルマリン固定パラフィン包埋標本から薄切り切片を作成、病理組織学的所見を評価する。

切除標本を分子生物学的手法を用いて検討し、発癌への LOX 経路の関与を検討する。

4. 研究成果

検索動物数：142 匹に対して手術を施行し、106 匹が 1 週間以上生存可能であった。術後 1 週間経過した時点でランダムに Control 群(70 匹)と pranlukast 投与群(36 匹)に振り分けた。106 匹のうち 7 匹(control 群 5 匹、pranlukast 投与群 2 匹)が実験期間中に死亡し、検討から除外した。死因は栄養不良や肺炎などであり、両群間で死亡率に差はなかった。飼料摂取量の差はなく、約 20g/日であった。Control 群(10 週:10 匹、20 週:10 匹、30 週:10 匹、40 週:35 匹)、pranlukast 群(10 週:7 匹、20 週:7 匹、30 週:7 匹、40 週:15 匹)につき検討を行った。手術後体重変化：両群間において 10 週毎の体重の平均値に差は認められなかった。

病理組織学的検討

逆流性食道炎発生率：コントロール群・LOX 阻害剤投与群ともに 100%、LOX 阻害剤投与群で程度は比較的軽度。

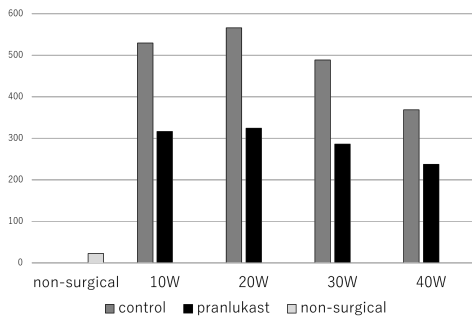
バレット上皮 (BE) 発生率：コントロール群；94%、LOX 阻害剤投与群；69%、LOX 阻害剤投与で有意に発生を抑制。

食道腺癌 (ADC) 発生率：コントロール群；69%、LOX 阻害剤投与群；15%、LOX 阻害剤投与で有意に発生を抑制。

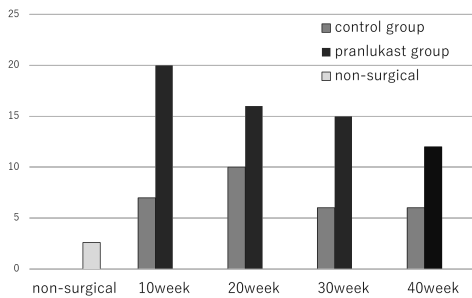
wks		BE	ADC
10th	control	0%	0%
	planlukast	0%	0%
20th	control	60%	10%
	planlukast	14%	0%
30th	control	70%	40%
	planlukast	43%	0%
40th	control	94%	69%
	planlukast	69%	15%

免疫組織学的検討

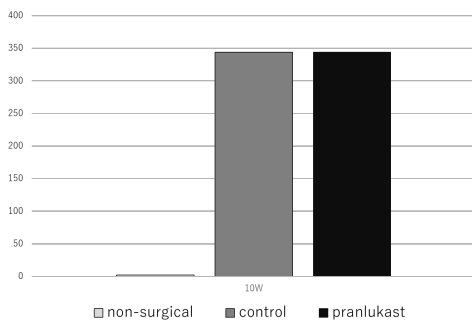
組織増殖活性(Ki-67 免疫染色): 正常粘膜に比し両群とも亢進、LOX 阻害剤投与で有意に抑制。



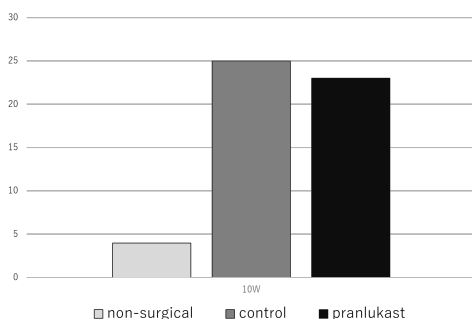
アポトーシス(TUNEL 法): 正常粘膜に比し両群とも亢進、LOX 阻害剤投与で有意に増加。



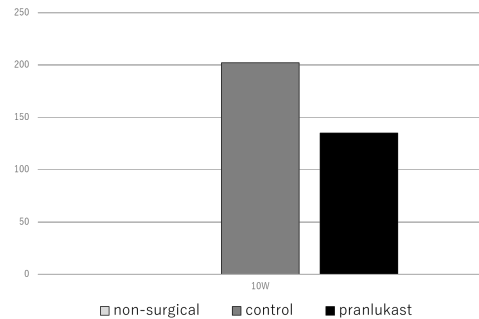
LOX 発現 (5-LOX 免疫染色): 正常粘膜に比し両群とも亢進、群間に差を認めず。



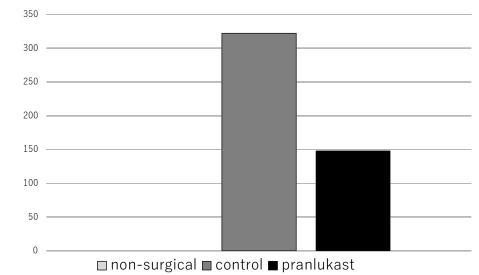
浸潤肥満細胞数(トリイジンブルー染色): 群間に差を認めず。



浸潤好酸球数(HE 染色): LOX 阻害剤投与群で少なかったが、有意差にはいならず。



浸潤マクロファージ数(CD68 免疫染色): LOX 阻害剤投与群で有意に減少。



< 考察 >

LOX 阻害剤の投与により、前癌病変であるバレット上皮・食道腺癌の発生が抑制された。LOX 阻害により消化液逆流に伴う慢性的な炎症状態を抑制することが、発癌抑制につながったと考えられる。炎症細胞の中でも特にマクロファージの浸潤が抑制されていた。マクロファージによる過剰な組織増殖刺激が発癌要因の一つと考えられた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

尾山 勝信 (OYAMA, Katsunobu)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：70460350

(2)研究分担者

伏田 幸夫 (FUSHIDA, Sachio)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：10301194

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし