

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10810

研究課題名(和文) 胃酸逆流と気道疾患 動物モデルを用いた検討

研究課題名(英文) Respiratory tract lesions in rats with chronic acid reflux esophagitis.

研究代表者

島津 倫太郎 (Shimazu, Rintaro)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号：50325627

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：胃酸逆流が一因と考えられている咽喉頭症状に喉頭肉芽腫、咽喉頭異常感症、慢性咳嗽、歯周炎、肺線維症があるが、その病態を動物モデルにより再現し、その発症機序を解明した。また胃液・十二指腸混合液が食道癌およびBarrett食道の発症に強く関与することから、その動物モデルを作製し、咽頭癌の発症の原因になるかを検討した。その結果、頸部食道に扁平上皮癌の発生を確認した。

研究成果の概要(英文)：Gastric acid reflux has been reported to be a factor of various pharyngo-laryngeal diseases, including laryngeal granuloma, globus pharyngeus, chronic cough, and pulmonary fibrosis. We created an animal model of gastro-esophageal reflux disease and elucidated the mechanism and pathogenesis. Moreover, reflux of gastro-duodenal contents induces esophageal carcinoma and Barrett's esophagus, we created an animal model of gastro-duodenal reflux to understand the association between gastro-duodenal reflux and pharyngeal carcinoma. The development of squamous cell carcinoma was observed in the cervical esophagus.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：胃酸逆流 喉頭肉芽腫 咽喉頭異常感症 慢性咳嗽 肺線維症 歯周炎

1. 研究開始当初の背景

胃酸逆流は耳鼻咽喉科疾患の増悪因子のひとつであり、近年、罹患患者数の増加が報告されている。我々は様々な耳鼻咽喉科疾患の発症や病態に対する胃酸逆流の影響を調べるために胃酸逆流モデル動物を作成し、耳鼻咽喉領域や食道および下気道の形態学的変化を肉眼のおよび組織学的に観察する研究を行っており、これまでに胃酸逆流が食道や咽喉頭の粘膜下に慢性炎症を惹起することなどを報告してきた。

咽喉頭異常感症および喉頭肉芽腫は耳鼻咽喉科の日常臨床にて遭遇する機会が多い疾患の一つであり、胃酸逆流がその誘因の一つであることは広く認識されている。胃酸逆流による咽喉頭病変 (LPRD) の発生機序として、直接障害説と反射説があるが、胃酸逆流の程度と咽喉頭病変との関連については不明な点が多い。LPRD の発生機序や病態を理解するには、実際に胃酸逆流によって咽喉頭粘膜にどのような病的変化が生じるのかを観察することが重要であるが、患者を対象とした臨床研究では限界がある。そこでわれわれはヒトの慢性逆流性食道炎の病態に近い GERD モデルラットを作成し、喉頭および下咽頭における形態学的変化について解析・検討し、報告を行ってきた。その結果、術後 8 週より胃酸逆流による下咽頭粘膜の上皮に肥厚と炎症細胞の浸潤を認めた。そして経過とともに慢性炎症が進行し、さらに胸部食道周囲の神経細胞、喉頭披裂部、肺にも炎症浸潤を認めた。このことから咽喉頭異常感、喉頭肉芽腫、慢性咳嗽の病態のひとつとして胃酸逆流による炎症性変化が考えられた。さらにこのモデル作成時に喉頭粘膜に機械的に損傷を加えることにより、術後 2 週間で喉頭肉芽腫を作成することに成功した。一方で機械的刺激のみを与え胃酸逆流のないコントロール群の喉頭では、機械的刺激により声帯遊離縁粘膜が剥離しており、水疱形成を認めた

のみであった。以上の結果から、喉頭肉芽腫の形成には機械的刺激と胃酸逆流が大きく関与することが示された。

2. 研究の目的

1) 胃酸逆流に伴う咽喉頭の慢性炎症発症の個体差に関与する因子とは

これまでの研究において、胃酸逆流の程度と咽喉頭の形態学的変化が比例していない個体がいくつか認められた。臨床においても胃酸逆流症に伴う咽喉頭症状 (LPRD) は GERD 患者の約 10% とされている³⁾。LPRD の発症機序において胃酸逆流以外の要因がある可能性があり、われわれはその有力な因子として唾液分泌量の低下を検討している。唾液分泌は咽喉頭に達した胃酸の中和と wash out する役割を持つと思われる。そのため GERD モデルラットの両側顎下腺を摘出し、その唾液分泌量の変化と咽喉頭の形態学的変化の関連性を検討する。

2) 胃酸逆流に加えて、喉頭粘膜に損傷を加えることにより、喉頭肉芽腫が発症するかどうか

これまでの報告にて喉頭肉芽腫の作成に成功した²⁾が、臨床的好発部位である喉頭披裂部に作成するためには、顕微鏡下の微細手術が必要である。また機械的損傷の程度と肉芽腫形成との関連性についても検討する必要があると考えている。

3) 胃酸の長期暴露が下気道に与える影響は

GERD は気管支喘息、COPD、嚥下性肺炎などの呼吸器疾患の増悪因子と言われている。実際、われわれの報告においても、モデルラットの下気道に胃内容物の microaspiration による組織学的変化や杯細胞化生、膠原線維の増殖を認めた¹⁾。このラットをさらに長期間 (50 週以上) 観察し、その組織学的変化を検討する。

4) 胃酸逆流が滲出性中耳炎発症の誘因となるかどうか

滲出性中耳炎は耳管機能障害により引き起こされる疾患であり、小児期では生理的に胃食道逆流が起きるため、滲出性中耳炎の好発時期である。実際に、小児の中耳滲出液中に高濃度のペプシノーゲンが検出されると報告されており⁴⁾、また動物モデルにおいて胃酸と活性化されたペプシンが、上咽頭に存在する耳管開口部経由に耳管粘膜上皮を障害したとの報告もある⁵⁾。これらの報告から胃酸逆流と滲出性中耳炎発症には大きな因果関係があると思われるが、実際に証明した報告はない。そこで GERD モデルラットを用いて、胃酸逆流の程度と中耳粘膜の組織学的変化の関連性を明らかにする。

5) 胃酸+十二指腸内液逆流が咽喉頭の慢性炎症発症に与える影響は

Barette 食道の発症に際して、胃液と十二指腸液の逆流が重要であることが明らかにされており、実際の動物実験において十二指腸液に含まれる胆汁酸が食道重層扁平上皮に起こる粘膜障害や発癌に関与していることが報告された⁶⁾。そこで同様のモデルラットを作成し、胃液+十二指腸液の逆流が咽喉頭にどのような組織学的変化をきたすか検討する。

3. 研究の方法

1999年にOmuraらが発表した慢性逆流性食道炎モデルラットと同様の方法によって作成する⁸⁾。これは約2mm幅の18Frネラトンカテーテルを胃幽門輪に通し、さらに前胃腺胃境界部を結紮する方法であり、製作手技が比較的簡便であり、術後約2週間で100%の逆流性食道炎が完成すると報告されている。また胃噴門部に手術操作を加えず逆流防止機構を温存している点では生体に近い逆流モデルであると考えている。このモデルラットを術後2週目より20週目まで各週数匹ずつに分けて、イソフルラン下に喉頭・下咽頭・気管から

食道・胃噴門部にかけて摘出する。摘出後、喉頭・下咽頭と食道に分割し、ホルマリン固定した後、HE染色を行い、声帯および下咽頭粘膜、気管支に炎症などの変化がどの時期からどの程度、認められるか組織学的に観察する。モデルラットの声帯を専用喉頭鏡にて顕微鏡下に観察し、声帯粘膜に機械的損傷を加える。これまでのわれわれの報告²⁾では、GERDモデル作成手術と同時にこれらの機械的刺激を加えたが、今回は刺激時期に関しても検討を行う。例えば、胃手術の前後または、胃酸逆流が術後2週以降に行うかを比較検討する。さらに機械的損傷の深度と肉芽腫形成の関連性について比較検討する。2003年にKumagaiらが発表した胃液+十二指腸液逆流モデルラットを作成する⁶⁾。胃-食道吻合部を切開し、上部空腸と側々吻合することにより、胃-食道吻合部の機能を破壊する一方で、胃およびその機能を温存し、胃液+十二指腸の両者が食道へ逆流するモデルである。

4. 研究成果

GERD モデルラットを用いて、胃酸逆流と耳鼻咽喉科疾患の発症機序を検討する研究は国内外でも非常に希少である。とくに動物モデルを用い胃酸逆流と喉頭肉芽腫について検討したわれわれの報告は、1968年にDelahuntyらが、イヌの声帯突起粘膜に胃酸を繰り返し塗布することにより肉芽腫形成を認めたとの報告⁷⁾以来のものであり、ラットを用いた初めての報告である。この報告にて平成24年度日本気管食道科学会奨励賞を受賞した。また同様に動物モデルを用いて胃酸逆流と慢性咳嗽の関連性を報告し、第16回日本咳嗽研究会(平成26年度)において優秀演題賞を受賞した。

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10件)

- 1) 佐藤有記、島津倫太郎、倉富勇一郎 . 舌根部に発生した神経鞘腫の1症例 口咽科 31(1) 119-124. 2018. 査読有 .

- 2) Shimazu R, Yamamoto M, Minesaki A, Kuratomi Y.: Dental and oropharyngeal lesions in rats with chronic acid reflux esophagitis. *Auris Nasus Larynx*. 2018;45(3):522-526. 査読有
- 3) 川崎 佳奈子, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎, 佐藤 慎太郎, 上村 哲司 頤下皮弁を併用して喉頭全摘術を施行した喉頭癌肉腫の1例 耳鼻 63(6) 228-232. 2017. 査読有 2017.
- 4) 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎 【安全で効果的なステロイド療法】ステロイド療法の効果的な使い方 耳鼻咽喉科疾患とステロイド 臨牀と研究 94(7) 841-843. 2017. 査読無
- 5) 島津 倫太郎, 山本 美保子, 峯崎 晃充, 倉富 勇一郎 胃酸逆流症(GERD)と口腔疾患の関連性の検討 動物モデルを用いて 口咽科 30(2)191-195. 2017. 査読有
- 6) 島津 倫太郎, 山本 美保子, 峯崎 晃充, 嶋崎 絵里子, 倉富 勇一郎 当科における早期舌癌(T1/T2/NOMO)の予後因子の検討 頭頸部癌 43(1) 17-22. 2017. 査読有
- 7) Shimazu R, Aoki S, Kuratomi Y.: Experimental pulmonary fibrosis in rats with chronic gastric acid reflux esophagitis. *Auris Nasus Larynx*. 2015;42(5):382-4. 査読有
- 8) 島津 倫太郎, 青木 茂久, 倉富 勇一郎 胃酸逆流による下気道の組織学的変化の検討 日気食会報 66(4) 245-249. 2015. 査読有
- 9) 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎 【耳鼻咽喉科薬物療法 2015】耳鼻咽喉科の疾患・症候別薬物療法 逆流性食道炎 *JOHNS* 31(9) 1340-1342. 2015. 査読無
- 10) Shimazu R, Kuratomi Y, Aoki S,

Inokuchi A.: Laryngeal granuloma in experimental rats with gastroesophageal reflux disease and mechanically injured vocal cord mucosa. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2014;123(4):247-51. 査読有

〔学会発表〕(計 20 件)

- 1) 舌根部に発生した神経鞘腫の 1 症例 佐藤 有記, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2017.
- 2) 下咽頭癌に対する化学放射線療法時の粘膜障害に亜鉛および EPA 含有経腸栄養剤投与が有効であった一例 前間 真弓, 林 章浩, 池田 弘典, 椋島 久美子, 相原 秀俊, 井手 貴雄, 北村 浩晃, 島津 倫太郎, 江口 有一郎. 2017.
- 3) 当科で行ったセツキシマブ・シスプラチン・5-FU 併用療法についての検討 初回治療例を中心に 宮崎 俊一, 門司 幹男, 山内 盛泰, 加藤 久美子, 峯崎 晃充, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2017.
- 4) 頭頸部進行癌に対する S-1 隔日投与方法を用いた補助化学療法の検討 鈴木 久美子, 門司 幹男, 島津 倫太郎, 斎藤 真貴子, 嶋崎 絵里子, 峯崎 晃充, 倉富 勇一郎. 2017.
- 5) 当科で施行した喉頭気管分離術症例の検討 峯崎 晃充, 宮崎 俊一, 嶋崎 絵里子, 斎藤 真貴子, 山内 盛泰, 鈴木 久美子, 門司 幹男, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2017.
- 6) 佐賀県における新生児聴覚スクリーニング 10 年間の検討 斎藤 真貴子, 森本 邦子, 宮崎 俊一, 峯崎 晃充, 鈴木 久美子, 門司 幹男, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2017.
- 7) 甲状舌管に生じた乳頭癌の 1 例 柴宮 夏子, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎.

- 2017.
- 8) 胃食道逆流症(GERD)と口腔疾患の関連性の検討 動物モデルを用いて 島津倫太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 9) 胃液・十二指腸液逆流モデルにおける咽喉頭の病理学的変化の検討 島津倫太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 10) 当科における下咽頭扁平上皮癌の治療成績の検討 嶋崎 絵里子, 門司 幹男, 鈴木 久美子, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 11) 当科における進行舌癌症例の検討 峯崎 晃充, 嶋崎 絵里子, 鈴木 久美子, 門司 幹男, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 12) 当科における喉頭声門上癌症例の検討 鈴木 久美子, 島津 倫太郎, 門司 幹男, 佐藤 慎太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 13) 当科における声門癌の治療成績 門司 幹男, 島津 倫太郎, 鈴木 久美子, 斎藤 真紀子, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 14) 当科における中咽頭癌症例の検討 斎藤 真貴子, 鈴木 久美子, 門司 幹男, 島津 倫太郎, 佐藤 慎太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 15) 当科における上咽頭癌症例の検討 宮崎 俊一, 斎藤 真貴子, 鈴木 久美子, 門司 幹男, 佐藤 慎太郎, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 16) 胃液・十二指腸液逆流モデルにおける咽喉頭の病理学的変化の検討 島津倫太郎, 倉富 勇一郎. 2016.
 - 17) セツキシマブに過敏反応を示した獣肉アレルギーをもつ頭頸部癌患者の2例 嶋崎 絵里子, 門司 幹男, 峯崎 晃充, 斎藤 真貴子, 鈴木 久美子, 佐藤 慎太郎, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2015.
 - 18) 当科における耳下腺悪性リンパ腫症例の検討 峯崎 晃充, 嶋崎 絵里子, 斎

藤 真貴子, 鈴木 久美子, 門司 幹男, 佐藤 慎太郎, 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2015.

- 19) 舌癌の浸潤と外科的治療 倉富 勇一郎, 峯崎 晃充, 嶋崎 絵里子, 斎藤 真貴子, 門司 幹男, 鈴木 久美子, 佐藤 慎太郎, 島津 倫太郎. 2015.
- 20) GERD モデルラット長期間観察による咽喉頭の組織学的変化の検討 島津 倫太郎, 倉富 勇一郎. 2015.

〔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

島津 倫太郎 (Shimazu Rintaro)
佐賀大学・医学部 准教授
研究者番号: 50325627

(2) 研究分担者

倉富 勇一郎 (Kuratomi Yuichiro)
佐賀大学・医学部 教授
研究者番号: 30225247

青木 茂久 (Aoki Shigehisa)
佐賀大学・医学部 准教授
研究者番号: 10448441

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()