

ハムスター膵・胆管合流胆道発癌モデルにおける化学予防の検討

竹尾 智行

〔目的〕膵・胆管合流異常症に最も類似したモデルであるハムスター膵・胆管合流胆道発癌モデルを作成し、発癌物質である *N*-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (以下 BOP) を投与後、発生する癌に対し、5種類の化学予防物質を投与し発癌抑制効果を検討した。

〔方法〕雌性7週齢 Syrian golden hamster に外科的処置を加えハムスター膵・胆管合流胆道発癌モデルを作成した。術後4週目より発癌物質 BOP を10 mg/kg 週1回、6週間皮下注射した。その後通常飼育した無治療群 (no therapy ; n =12), 飲水に化学予防物質として cimetidine を術後21週の実験終了まで投与した群 (cimetidine ; n =13), 同様に FOY-305投与群 (FOY-305 ; n =13), ranitidine 投与群 (ranitidine ; n =9), etodolac 投与群 (etodolac ; n =16), MGN-3投与群 (MGN-3 ; n =8) をそれぞれ作製し病理組織学的に化学予防効果を検討した。

〔結果〕(1) etodolac は膵 carcinoma と総病変数, 肝外胆管 atypical hyperplasia, 肝内胆管 atypical hyperplasia および carcinoma, 胆嚢 atypical hyperplasia と胆嚢総病変数を抑制した。(2) cimetidine は膵 hyperplasia と総病変数, 肝外胆管 atypical hyperplasia と総病変数, 胆嚢総病変数を抑制した。(3) ranitidine は膵 hyperplasia を抑制したがその他の病変において有意差を認めなかった。(4) FOY-305は, 膵 hyperplasia と総病変数, 肝外胆管 atypical hyperplasia と総病変数, 肝内胆管 atypical hyperplasia, 胆嚢 atypical hyperplasia と胆嚢総病変数を抑制した。(5) MGN-3投与群は胆嚢 atypical hyperplasia のみ抑制したが, 肝内胆管 hyperplasia で病変数の増加傾向を示した。

〔結論〕これらの実験結果により, (1) COX-2選択的抗炎症作用を持つ etodolac は本発癌モデルにおいても発癌予防効果があることが示された。(2) cimetidine は同じ histamine type-2 receptor antagonist である ranitidine との比較検討において, 発癌予防効果は cimetidine のみ有する E-selectin 阻害作用を介するものが主と考えられ, 逆流する十二指腸液の減少は少ないものと推測された。(3) 本発癌モデルは膵酵素の活性化が胆道上皮に与える影響が大きいことより, FOY-305における serine 系 protease inhibitor の膵酵素活性阻害作用が癌の発育進展に抑制的に作用したと考えられた。(4) これら発癌予防効果を有する3剤は経口摂取可能で副作用もみられなかったことより化学予防物質として有用であると考えられた。

(平成14年9月27日受理)

Chemopreventive Effects on Carcinogenesis in a Hamster Model (CDDDB model)

Tomoyuki TAKEO

【Background】 The effects of chemopreventive agents on carcinogenesis were examined using a hamster model (cholecystoduodenostomy with dissection of the extrahepatic bile duct at the distal end of the common duct [CDDB] model) initiated with *N*-Nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP).

It is recognized that the CDDB model replicates pancreaticobiliary maljunction in man.

【Material and method】 Seven-week old Syrian golden hamsters were operated on for the CDDB model.

Four weeks after CDDB, all the animals were subcutaneously injected with BOP (10 mg/kg) weekly for six weeks.

The animals were divided into six groups; group 1 received drinking water throughout the experimental period, group 2 received cimetidine throughout the experimental period, group 3 received FOY-305 throughout the experimental period, group 4 received ranitidine throughout the experimental period, group 5 received etodolac throughout the experimental period, and group 6 received MGN-3 throughout the experimental period.

【Results】 The mean number of carcinomas and total lesions in the pancreas, atypical hyperplasia lesions in the extrahepatic bile duct, atypical hyperplasia and carcinoma lesions in the intrahepatic bile duct, and atypical hyperplasia and total lesions in the gallbladder in the etodolac group were significantly less than those in the no therapy group.

The mean number of hyperplasia and total lesions in the pancreas, atypical hyperplasia and total lesions in the extrahepatic bile duct, and total lesions in the gallbladder in the cimetidine group were significantly less than those in the no therapy group.

The mean number of hyperplasia lesions in the pancreas in the ranitidine group was significantly less than that in the no therapy group, but no difference in other lesions was observed.

The mean number of hyperplasia and total lesions in the pancreas, atypical hyperplasia and total lesions in the extrahepatic bile duct, atypical hyperplasia lesions in the intrahepatic bile duct, and atypical hyperplasia and total lesions in the gallbladder in the FOY-305 group was significantly less than those in no therapy group.

The mean number of hyperplasia lesions in the gallbladder in the MGN-3 group was significantly less than that in the no therapy group. There was not a difference in the mean number of total lesions in the intrahepatic bile duct, but the mean number of hyperplasia lesions in the MGN-3 group was significantly higher than that in the no therapy group.

【Discussion and conclusion】 These results suggest that etodolac, which has the inhibitory effects of a cyclooxygenase-2, has chemopreventive potential in the CDDB model.

Cimetidine and ranitidine are histamine type-2 receptor antagonists. The main chemopreventive effect of cimetidine might be its inhibitory effects on E-setectoin. It does not influence the quantity of reflux of duodenal contents into the biliary tract.

The serine protease inhibitor FOY-305 inhibited lesion development. This is probably because this CDDB model affects the activity of the pancreatic enzyme.

Etodolac, cimetidine and FOY-305 can be administered orally and no side effects were seen.

These results suggest that these agents escapes from MGN-3 have a chemopreventive potential in the CDDB model. (Accepted on September 27, 2002) *Kawasaki Igakkaishi* 28(4):257-268, 2002

Key Words ① Pancreaticobiliary maljunction ② Chemoprevention
③ CDDB ④ Carcinogen ⑤ BOP

はじめに

膵・胆管合流異常症は、幼少時にみられる定型例を除くとほとんどが臨床的に無症状で、成人になって検査で偶然発見されることが多い。そのため、今後腹部超音波検査やmagnetic resonance cholangio-pancreatography (MRCP)など非観血的検査機器の発達、普及により、無症状の膵・胆管合流異常症例がさらに増加することが予想される。またこの疾患は胆道系の癌の発生が高率であることより前癌状態として認識されている。現在治療、予防法の第一選択としては胆汁と膵液の分流手術が基本と考えられている^{1)~4)}。

そこで今回、膵・胆管合流異常症のモデルであるハムスター膵・胆管合流胆道発癌モデル⁵⁾を使用し、発癌物質である *N*-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (以下 BOP) を投与し、膵、肝外胆管、肝内胆管、胆嚢に発生する前癌病変および癌を予防できるかどうかを異なる作用機序を持つ 5 種類の化合物を投与することにより病理組織学的に検索した。

材料及び方法

1. 実験動物及び飼育条件

雌性 7 週齢、体重 90~100 g の Syrian golden hamster (日本エスエルシー株式会社) を使用した。まず最初に膵・胆管合流胆道発癌モデルを作製する手術を施行した。その後 1 匹づつに分けプラスチックケージで飼育し、術後 4 週目より発癌物質である BOP を 10 mg/

kg 週 1 回、6 週にわたって皮下注した。BOP 皮下注終了翌日(術後 8 週目)から化学予防物質として、それぞれ etodolac, cimetidine, ranitidine, FOY-305, MGN-3 (arabinoxylan compound) を投与する 5 群を作製した。なお投与方法は etodolac 200 ppm, cimetidine 500 ppm, ranitidine 200 ppm, FOY-305 200 ppm, MGN-3 (arabinoxylan compound) 500 ppm の濃度で飲料水に混入し自由摂取とした。ハムスター摂取推定量は、ヒト投与量/kg/day で計算し、同量から約 3 倍とした。無治療群は BOP 投与終了後、化学予防物質は一切投与せず水道水を摂取させた。室温は 23±3°C、湿度は 30~90%、飼料は各群とも基本飼料を投与した (Fig. 1)。動物は、体重を週一度の割合で測定し、連日状態を観察した。etodolac は日本新薬株式会社、cimetidine は住友製薬株式会社、ranitidine はグラクソ・スミスクライン株式会社、FOY-305 は小野薬品工業株式会社、MGN-3 は大和薬品株式会社より提供された。

2. 手術方法

Pentobarbital sodium (50 mg/kg) 腹腔内投与による麻酔下に開腹し、膵液が確実に胆管内を

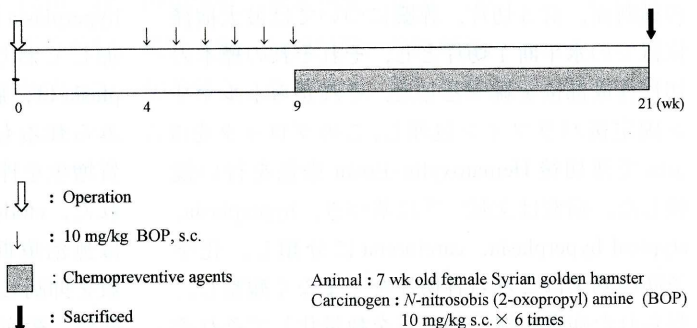
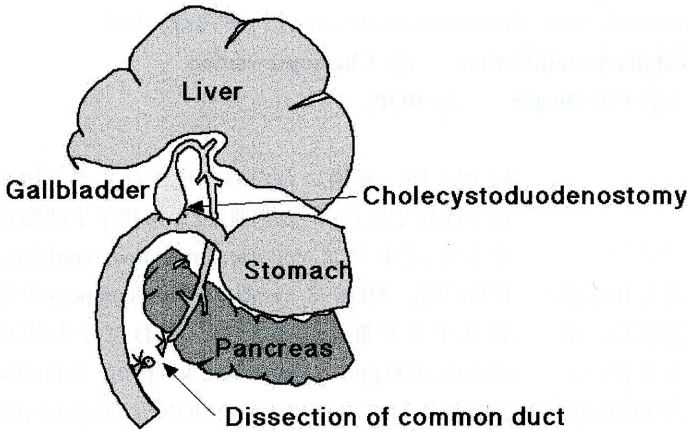


Fig. 1. Material and Methods

Surgical procedure



(Tajima et al : Jpn. j. Cancer Res., 1994)

Fig. 2. A cholecystoduodenostomy was carried out with dissection of the extrahepatic bile duct at the distal end of the common duct (CDDDB) in hamsters in such a way that pancreatic juice and duodenal contents would enter the biliary tract.

逆流し、かつ十二指腸液が胆道内に逆流し得るように、Tajima らの報告に準じ胆管を十二指腸壁流入部直上で共通管を結紮切離し、胆嚢を十二指腸と吻合した⁵⁾ (Fig. 2)。

3. 病理組織学的検討

術後21週経過後犠牲死させ、肝・胆・膵・十二指腸を一塊として摘出した。摘出した臓器は肝、胆嚢、肝外胆管、膵臓に分けた。肝内胆管は肝の最大割面が得られるように1切片を作成し、胆嚢については胆嚢十二指腸吻合部の最大径の部位での1切片、肝外胆管は肝門部より結紮部までを上部、中部、下部に分け、それぞれの横断面、計3切片、膵臓については最大横径位置での水平断1切片とし、それぞれの標本の切片作成部位を統一とした。それからホルマリン固定後パラフィン包埋し、このブロックを5 μ m で薄切後 Hematoxylin-Eosin 染色を行い鏡検した。病変は文献^{6)~8)}に基づき、hyperplasia, atypical hyperplasia, carcinoma に分類し、化学予防の効果はこれら各切片をくまなく観察し、得られた病理組織学的所見を数量化してそれぞれ比較検討した。肝外胆管、膵管の代表的な組

織像を示す (Fig. 3, 4)。

4. 統計学的処理

得られた病理学的所見を数量化し Student's t-test で検定し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。体重は分散分析を用いた。

本実験は川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け、川崎医科大学動物実験指針に基づき実施された。

結 果

1. 膵病変：無治療群では膵管上皮細胞の背が高くなり、核の腫大がみられる hyperplasia の所見が認められた。また、核は著明に腫大し、しばしば紡錘形となり、核の重層化、膵管上皮細胞の乳頭状増生が見られる atypical hyperplasia や、核異型が著明で、膵管内に篩状に増生がみられる carcinoma から、間質増生を伴う浸潤性の carcinoma なども認めた。これに対し、cimetidine, ranitidine と FOY-305 投与群では無治療群に比べ hyperplasia の病変数が抑制され、etodolac 投与群においては carcinoma の病変数が抑制された。また総病変数は etodolac, cimetidine, ranitidine, FOY-305 の4群において抑制された (Table 1)。

2. 肝外胆管病変：無治療群では膵病変同様に、hyperplasia は細胞の大きさがやや大きく数が増加しており核の腫大がみられ、atypical hyperplasia は、腫大した核の重層化と乳頭状増生がみられるもの、carcinoma は核異型が著明で間質増生を伴う浸潤性の carcinoma として認められた。etodolac, cimetidine, FOY-305 各投与群は無治療群に比べ、atypical hyperplasia の病変数を抑制し、さらに cimetidine と FOY-305 投与群は、総病変数も抑制した (Table 2)。

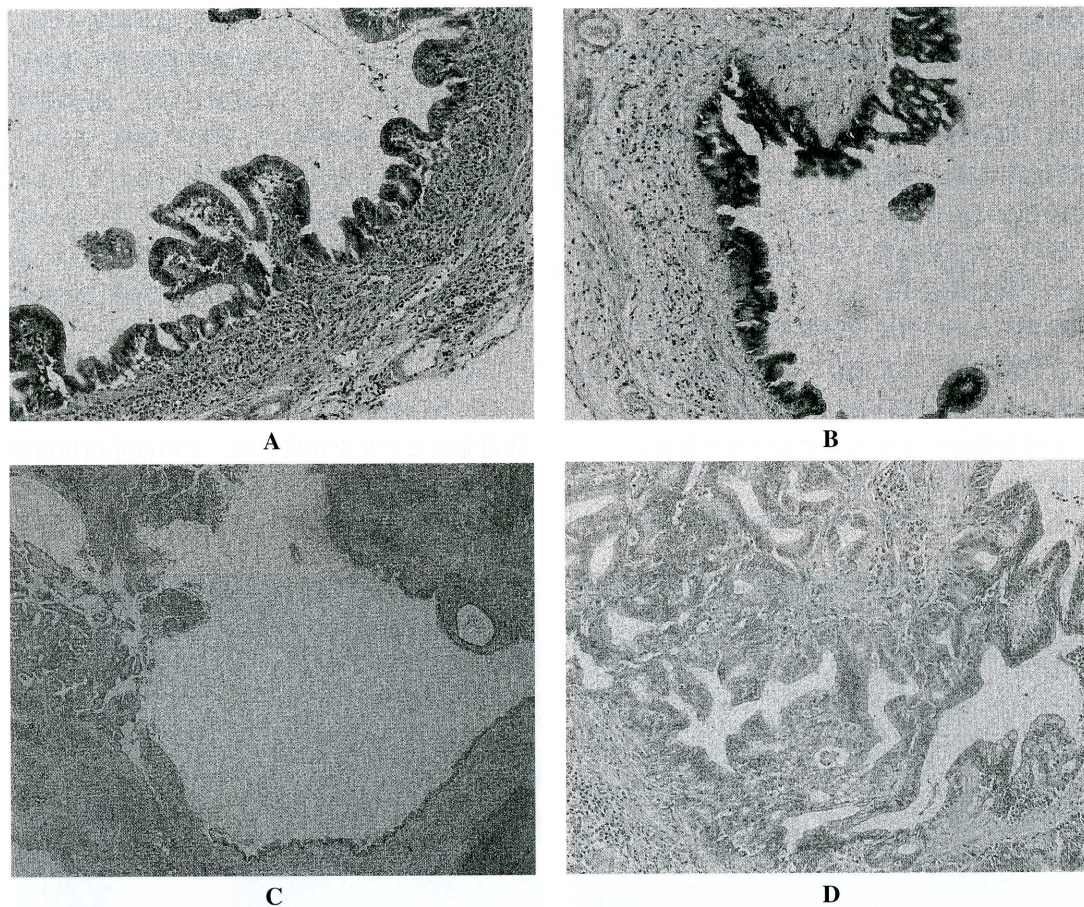


Fig. 3. **A** ; Microscopic view of hyperplasia of the extrahepatic bile duct in a hamster of the no therapy group. H. E. stain $\times 100$
B ; Microscopic view of atypical hyperplasia of the extrahepatic bile duct in a hamster of the no therapy group. H. E. stain $\times 100$
C ; Microscopic view of carcinoma of the extrahepatic bile duct in a hamster of the no therapy group. H. E. stain $\times 20$
D ; Microscopic view of carcinoma of the extrahepatic bile duct in a hamster of the no therapy group. H. E. stain $\times 100$

3. 肝内胆管病変：無治療群においては膵、肝外胆管病変と同様な hyperplasia, atypical hyperplasia, carcinoma を認めた。FOY-305投与群は, atypical hyperplasia を, etodolac 投与群は atypical hyperplasia および carcinoma の病変数を抑制した (Table 3)。

4. 胆嚢病変：無治療群は同様な病変を認めた。cimetidine 投与群は総病変数で無治療群に比べ抑制を示したものの, FOY-305, etodolac 投与群は atypical hyperplasia と総病変において有意差が見られた。MGN-3 投与群は atypical hyperplasia のみ抑制した (Table 4)。

5. 体重：最終体重は, 化学予防物質投与群に比し, 無治療群では体重の増加抑制が認められた。しかし統計学的な有意差は認められなかった (Table 5)。

考 察

1981年以降, 死亡原因の第一位である癌を予防することは, わが国において重要な課題となっており, 今まで行われていた二次予防である癌の早期発見, 早期治療にとどまらず, 癌罹患の予防である一次予防が最近積極的に行われつつある。この背景には, 癌の疫学的研究及び実験

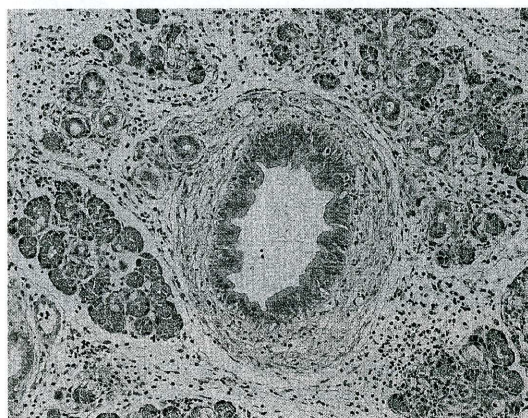
的研究により、ヒトの癌の原因、危険因子などがかなり解明され、生活習慣と癌の関係が明らかにされてきたほか、環境中の変異物質、発癌物質、促進物質及びこれらに対する抑制物質の検索も行われ、一部の癌については一次予防も可能となってきたことがあげられる⁹⁾。

癌の一次予防は種々な方法があるが、中でも化学予防が最近注目されている。この概念は天然物質あるいは合成化合物を使用し発癌プロセスを抑制することであり¹⁰⁾、約30年前に考え出されたといわれている¹¹⁾。その対象は、健康人、いわゆる癌のハイリスクグループである。

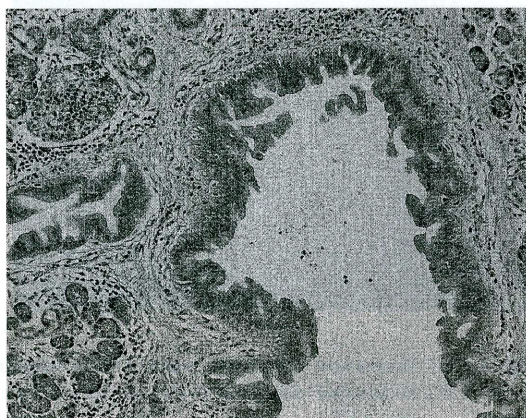
癌のハイリスクグループとしてよく知られているものの一つに膵・胆管合流異常症がある。

膵・胆管合流異常症は、“膵管及び胆管が十二指腸壁外で合流し、壁内括約筋機能が同部位にまでおよばないもの”と定義され¹²⁾、肝外胆管癌(44.2%)、胆嚢癌(54.6%)、膵癌(0.3%)その他稀であるが肝癌の発生もみられることで前癌状態として認識されている^{2),3),13)}。しかしその発癌機序はいまだ不明なところが多い。治療は現在、発癌予防を目指した手術療法が基本である²⁾。

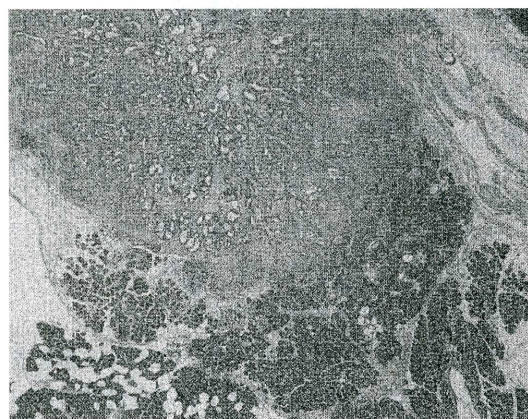
Tajimaら⁵⁾は、世界で初めてハムスターに今回の外科的処置を修飾的に行い、膵・胆管合流胆道発癌モデルを作成した。その後発癌物質のBOPを投与したところ、膵癌、肝内胆管癌のみならず、胆嚢癌、肝外胆管癌が効率的に発生



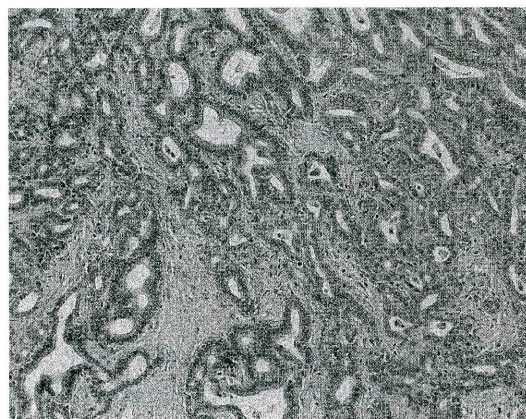
A



B



C



D

Fig. 4. A ; Microscopic view of hyperplasia of the pancreatic duct in a hamster of no the therapy group. H. E. stain $\times 100$
 B ; Microscopic view of atypical hyperplasia of the pancreatic duct in a hamster of the no therapy group. H. E. stain $\times 100$
 C ; Microscopic view of carcinoma of the pancreatic duct in a hamster of no the therapy group. H. E. stain $\times 20$
 D ; Microscopic view of carcinoma of the pancreatic duct in a hamster of no the therapy group. H. E. stain $\times 100$

Table 1. Pancreatic duct lesions

Group	Dose of chemopreventive agents	Effective no. of hamsters	Mean number of intrahepatic bile duct lesions (mean ± SD)			
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma	Total
no therapy	0	12	3.83 ± 1.19	1.92 ± 1.93	0.33 ± 0.65	6.08 ± 3.15
etodolac	200 ppm	16	3.75 ± 2.11	0.56 ± 1.03 *	0 *	4.31 ± 2.83
cimetidine	500 ppm	13	2.69 ± 1.55	0.85 ± 1.21	0.23 ± 0.44	3.77 ± 2.77
ranitidine	200 ppm	9	3.67 ± 1.87	1.11 ± 0.78	0.11 ± 0.33	4.89 ± 2.57
FOY-305	200 ppm	13	3.92 ± 1.89	0.62 ± 0.77 *	0.08 ± 0.28	4.62 ± 2.43
MGN-3	500 ppm	8	5.50 ± 2.14	0.75 ± 1.17	0.13 ± 0.35	6.25 ± 2.31

*Significant difference from no therapy ($p < 0.05$)

Effects of chemopreventive agents on the development of pancreatic ductal lesions induced in hamsters by cholecystoduodenostomy with dissection of the common bile duct

Table 2. Extrahepatic bile duct lesions

Group	Dose of chemopreventive agents	Effective no. of hamsters	Mean number of gallbladder lesions (mean ± SD)			
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma	Total
no therapy	0	12	0.92 ± 1.51	1.08 ± 0.79	0.25 ± 0.62	2.25 ± 0.96
etodolac	200 ppm	16	0.75 ± 0.45	0.12 ± 0.34 *	0	0.88 ± 0.62 *
cimetidine	500 ppm	13	0.69 ± 0.63	0.46 ± 0.78	0.08 ± 0.28	1.23 ± 0.83 *
ranitidine	200 ppm	9	0.89 ± 0.33	0.56 ± 0.53	0	1.44 ± 0.73
FOY-305	200 ppm	13	1.00 ± 0.00	0.23 ± 0.44 *	0	1.23 ± 0.44 *
MGN-3	500 ppm	8	1.13 ± 0.35	0.38 ± 0.52	0	1.50 ± 0.53

*Significant difference from no therapy ($p < 0.05$)

Effects of chemopreventive agents on the development of extrahepatic bile duct lesions induced in hamsters by cholecystoduodenostomy with dissection of the common bile duct

することを報告した。そして発生した胆嚢癌、肝外胆管癌は、病理組織学的にヒトの癌と類似していた。このため、現在このモデルは、ヒトの膵・胆管合流異常症に非常に近いモデルとして認識されている。このモデルの発癌機序は、胆汁と膵液を含んだ十二指腸液が、胆管へ逆流、うっ滞し、膵酵素の活性化、二次胆汁酸の増加による胆道粘膜障害をおこし、発癌剤の効果を促進すると考えられている^{5), 14)}。

今回このモデルを使用し、発癌に対する化学予防効果を有する etodolac, cimetidine, ranitidine, FOY-305, MGN-3 (arabinoxylan compound) の

5種類の薬剤を使用した。

etodolac はプロスタグランジン E₂ 生合成阻害作用 (cyclooxygenase-2 選択的阻害作用) のある非ステロイド性抗炎症薬である。

炎症においてプロスタグランジン (PG) など生体内活性物質が生成される。これは、細胞の膜成分のリン脂質に蓄えられているアラキドン酸が、ホスホリパーゼ A₂ により遊離され、cyclooxygenase (COX) が働き中間体を通して最後に PG, トロンボキサンなどに代謝される。COX-2 選択的阻害作用のある etodolac は、PG 産生の最初の段階における COX を低濃度で阻

害する。

COXにはCOX-1とCOX-2があり、COX-1は生理的に存在する多くの細胞の構成酵素であるのに対し、COX-2は炎症に関与する誘導酵素であり、炎症反応にともない発現が誘導される。最近このCOX-2が発癌において有意に発現しており、COX-2活性を阻害することにより発癌を抑制できるという報告がある。肺、大腸、膀胱におけるCOX-2選択性抗炎症剤の発癌抑制効果が実験的に報告されている^{15)~20)}。

炎症と発癌の関係においては、以前から癌の発生には慢性炎症の存在が関与しているといわ

れてきた。その発癌メカニズムは、慢性炎症により産生される種々のサイトカインやアラキドン酸カスケードに関連する遺伝子の変化²¹⁾活性酸素による酸化DNA損傷とそれにともなう遺伝子変化などが示唆されている²²⁾。

臨床において、C型肝炎ウイルスによる慢性肝炎に、漢方製剤やウルソデオキシコール酸など抗炎症作用を有する物質を投与すると、肝細胞癌への進展を抑制し得ることが報告されている²³⁾。また、胃癌の発生要因には*Helicobacter pylori*が関与しているとWHO/IARCが認定している²⁴⁾。実験的にスナネズミに*Helicobacter*

Table 3. Intrahepatic bile duct lesions

Group	Dose of chemopreventive agents	Effective no. of hamsters	Mean number of pancreatic ductal lesions (mean±SD)			
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma	Total
no therapy	0	12	3.50±1.45	2.08±2.11	1.25±1.48	6.83±3.04
etodolac	200 ppm	16	2.81±1.51	1.13±1.20	0.31±0.48 *	4.25±2.32 *
cimetidine	500 ppm	13	1.54±1.27 *	1.61±1.19	0.69±0.75	3.85±2.44 *
ranitidine	200 ppm	9	2.11±0.93 *	1.33±0.87	0.67±0.71	4.11±2.03 *
FOY-305	200 ppm	13	2.08±1.41 *	1.23±1.09	0.54±0.66	3.85±1.99 *
MGN-3	500 ppm	8	3.88±1.81	1.38±1.77	0.63±0.74	5.75±3.77

*Significant difference from no therapy (p<0.05)

Effects of chemopreventive agents on the development of intrahepatic bile duct lesions induced in hamsters by cholecystoduodenostomy with dissection of the common bile duct

Table 4. Gallbladder lesions

Group	Dose of Chemopreventive agents	Effective no. of hamsters	Mean number of extrahepatic bile duct lesions (mean±SD)			
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma	Total
no therapy	0	12	1.25±0.97	1.58±1.93	0.08±0.29	2.92±1.56
etodolac	200 ppm	16	1.88±0.95	0.19±0.83 *	0	2.06±0.85
cimetidine	500 ppm	13	0.85±0.99	0.08±0.28 *	0	0.92±0.95 *
ranitidine	200 ppm	9	1.22±0.67	0.78±0.44	0	2.00±1.00
FOY-305	200 ppm	13	1.46±0.78	0.23±0.60 *	0	1.69±0.85 *
MGN-3	500 ppm	8	1.88±0.84	0.25±0.46	0	2.13±0.83

*Significant difference from no therapy (p<0.05)

Effects of chemopreventive agents on the development of gallbladder lesions induced in hamsters by cholecystoduodenostomy with dissection of the common bile duct

Table 5. Body weight

Group	Initial	Final
no therapy	107.4 ± 6.0	162.7 ± 10.3
etodolac	103.9 ± 6.2	179.7 ± 6.3
cimetidine	103.2 ± 6.1	180.5 ± 3.6
ranitidine	106.3 ± 4.8	181.0 ± 3.9
FOY-305	103.7 ± 5.7	179.1 ± 7.6
MGN-3	103.9 ± 7.9	180.1 ± 7.9

Values are means ± SD

Changes in Body Weight of Hamsters during the experiment

pylori を感染させることにより胃癌が発生し、その除菌により慢性胃炎と胃潰瘍、さらに胃癌の発生を予防できることが検証され、現在世界各国で人為的介入研究が進行中である。

このようなことから、COX-2選択的阻害作用を有する抗炎症剤の etodolac は、このモデルにおいても炎症が発癌に関与していることを考慮し、化学予防効果が得られるかどうか実験を試みた。実験結果を見ると、etodolac は、hyperplasia では有意差が出なかったものの、肝外胆管、肝内胆管、胆嚢病変において atypical hyperplasia、および膵、肝内胆管病変で carcinoma を有意に抑制している。etodolac にみられる COX-2選択的抗炎症作用はこのモデルにおいても有用であることが判明し、化学予防効果が得られた。

cimetidine は、histamine type-2 receptor antagonist であり、胃酸分泌抑制作用を有することから消化性潰瘍薬として使用されている。最近この作用以外に E-selectin 阻害作用による癌細胞の転移増殖抑制効果が注目されてきた。

癌は血行性転移・腹膜播種・リンパ節転移の3つの様式で進展する。そのいずれの場合も、癌細胞の持つ細胞接着分子が重要な役割を演じる。特に癌細胞と血管壁の接着は血行性転移の

成立を大きく左右する。

癌細胞と血管内皮細胞との接着は、細胞接着分子 selectin とそれに対応する糖鎖リガンドとの結合によって媒介される。selectin ファミリーには、E, P, L selectin がある。なかでも癌細胞と血管内皮細胞との接着において E-selectin が強く関与することが明らかにされており²⁵⁾、癌細胞の発現する sialyl Lewis X (sLe^x) と sialyl Lewis A (sLe^a) 糖鎖が血管内皮の E-selectin のリガンドとして機能する。そのため sLe^a 糖鎖、sLe^x 糖鎖および E-selectin の発現程度は血行性転移の予測評価で重要視されている²⁶⁾。

cimetidine は、この E-selectin を阻害する作用があり、腫瘍の転移・浸潤を抑制することが実験的に証明されている²⁷⁾。また、NK 細胞活性上昇、IL-6、IL-12 を誘導し、B 細胞、T 細胞の免疫力を賦活化する。INF- γ も誘導する。これらの作用で腫瘍細胞に対する宿主免疫応答を増加させるといわれている。癌の術後、免疫力の低下した状態に cimetidine のこれらの作用に期待して抗癌剤と併用投与され、有効性が報告されている^{28), 29)}。

一方、このモデルは、逆流する膵液、胆汁を含んだ十二指腸液が胆道系上皮に作用し、発癌に関与しているが、このことを考慮すると cimetidine の有する胃酸分泌抑制作用が逆流する十二指腸液の量に、どの程度影響しているか無視できない。そこで、免疫能を亢進させる作用はあるものの cimetidine に比べ腫瘍発育進展抑制効果の少ないとされている ranitidine を使用した^{30), 31)}。ranitidine は cimetidine 同様に histamine type-2 receptor antagonist であり、胃酸分泌抑制作用から消化性潰瘍薬として使用されている。

ranitidine は、膵の hyperplasia は抑制したもののその他の肝外胆管、肝内胆管、胆嚢病変に

ついて有意差はみられなかった。これは、このモデルにおける cimetidine の発癌抑制作用は、胃酸分泌抑制から逆流する十二指腸液の減少による影響よりもむしろ cimetidine のみ有する E-selectin を介する癌発育抑制効果の影響が大きいと考えられた。

FOY-305は、蛋白質分解酵素阻害剤として膵炎の治療薬として用いられている。

膵炎では、活性化された膵消化酵素、主として trypsin, elastase など protease が自己消化を起し、その分解産物が全身を循環し循環不全、呼吸不全、腎不全などを引き起こす。このため治療薬として protease inhibitor を投与することで、酵素活性を中和し、自己消化を抑制することができる。今回、膵炎の治療薬である protease inhibitor、特に serine 系 protease inhibitor である FOY-305 を実験に使用した。このハムスター膵胆管胆道発癌モデルは、逆流する膵液の膵酵素の活性化が胆管炎、膵炎を引き起こし発癌に関与しているため、膵酵素の活性化を抑制することで化学予防が可能と考えられる。さらに、近年、癌の浸潤・転移には matrix metalloproteinases (MMPs) や urokinase-type plasminogen activator (u-PA), plasmin などの serine protease が細胞外マトリックスや基底膜の分解に重要な役割を演じていることが知られており^{32), 33)}、臨床的および実験的に、serine protease が悪性腫瘍に多く発現していることが証明されている^{34)~37)}。この点においても FOY-305は、マトリックス分解酵素の1つである serine protease の活性化を抑制し、発癌および癌の進展抑制効果、および強力なフリーラジカル消去作用を介する癌進展抑制効果、NK細胞活性の増強効果があるとされている。浅野ら³⁸⁾は実験的にハムスターに発癌物質であるニトロソ化合物を投与した膵発癌モデルにおいて FOY-305のフリーラジカル消去作用を介する抗腫瘍効果を認めたとしているが、この膵発癌機序は今回行った実験モデルと共通であるため、この実験における FOY-305の制癌作用は、膵酵素活性阻害作用の関与およびフリーラジカル消去作用を介する抗

腫瘍効果による化学予防効果と思われた。

MGN-3 (arabinoxylan compound) は、変性米糠アラビノキシラン複合体であり、 β -1,4キシロピラノース環を有するヘミセルロースを含有する多糖類である。作用は、NK細胞活性上昇作用とT細胞、B細胞の免疫強化作用を有している。NK細胞活性増大メカニズムはIFN- γ の産生を通して行われるとされており、制癌作用の報告もある³⁹⁾。

MNG-3投与群は胆管 atypical hyperplasia のみ抑制したが、肝内胆管の hyperplasia で増加傾向を示した。原因は特定できないが、総病変数の差はないことより発癌促進作用は弱いと考えられた。

ま と め

膵・胆管合流異常症は、現在膵液と胆汁を分離する手術が治療法の原則となっているが、できれば手術を施行せず、薬剤により発癌を抑制することが望ましい。その一つとして化学予防があるが、化学予防物質は、長期間服用することが考えられるため、副作用が少ないこと、比較的簡単に摂取できることが必要である。今回化学予防物質として投与したいずれの群も体重および状態の変化はなく、副作用は認められなかった。今回の実験結果より etodolac, cimetidine, FOY-305は化学予防効果を認め、化学予防物質として有用であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始ご指導、ご校閲を賜りました川崎医科大学外科学(消化器)教室 角田 司教授に深甚なる謝意を表します。また実験の遂行にあたり御指導を戴きました川崎医科大学生化学教室 伏谷建造助教授、奈良県立医科大学腫瘍病理学教室 堤雅弘助教授に感謝するとともに、ご協力を賜った外科学(消化器)教室員の方々および香山美華研究補助員に深く感謝いたします。さらに、実験をサポートしていただいた動物実験センターの方々のご協力に感謝します。

本論文の一部は、SIXTH CONGRESS OF ASIAN SOCIETY OF HEPATO-BILIARY-PANCREATIC SURGERY (6-9 February 2001 Hong Kong), 第37回日本胆道学会総会 (2001年9月東京), 第102回日本外科学会総会 (2002

年4月京都)において発表した。

本研究の一部は99年度大学院重点特別経費および平成14年度川崎医科大学プロジェクト研究費「00-018」の援助によって行われた事を付記し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 岡田 正：膵・胆管合流異常と先天性胆道拡張症. 日外会誌 97：589-593, 1996
- 2) 戸谷拓二, 土岐 彰：胆道拡張症における癌発症とその対策. 日外会誌 97：594-598, 1996
- 3) 千々岩一男, 田中雅夫：胆嚢癌と膵胆管合流異常. 日外会誌 97：599-605, 1996
- 4) 藤井秀樹, 茂垣雅俊, 松田政徳, 板倉 淳, 松本由朗：膵・胆管合流異常 (胆管非拡張例) の自然経過観察例の予後. 肝胆膵 38：263-270, 1999
- 5) Tajima Y, Eto T, Tsunoda T, Tomioka T, Inoue K, Fukahori T, Kanematsu T : Induction of extrahepatic biliary carcinoma by *N*-nitrosobis (2-oxopropyl) amine in hamsters given cholecystoduodenostomy with dissection of the common duct. *Jpn J Cancer Res* 85 : 780-788, 1994
- 6) Mizumoto K, Kitazawa S, Ito S : Cycles of repeated augmentation pressure in rapid production of pancreatic and cholangiocellular carcinomas in hamsters initiated with *N*-nitrosobis (2-oxopropyl) amine. *Carcinogenesis* 10 : 1457-1459, 1989
- 7) Mizumoto K, Tsutsumi M, Kitazawa S, Denda A, Konishi Y : Rapid production of pancreatic carcinoma by initiation with *N*-nitrosobis (2-oxopropyl) amine and repeated augmentation pressure in hamsters. *J Natl Cancer Inst* 80 : 1564-1567, 1988
- 8) 堤 雅弘, 沖田俊司, 小西陽一：発生部位による膵管上皮由来腫瘍の生物学的特性. 病理と臨床 15：577-581, 1997
- 9) 厚生労働省：「21世紀における国民健康づくり運動 (健康日本21)」がん. http://www.1.mhlw.go.jp/topics/kenko21_11/b9f.html
- 10) 藤木博太：発癌の chemoprevention. 病理と臨床 9：47, 1991
- 11) 西野輔翼：癌の化学予防. *Molecular Medicine* 33 : 380-385, 1996
- 12) 日本膵管胆道合流異常研究会：膵・胆管合流異常の診断基準. 第10回日本膵管胆道合流異常研究会プロシーディングス 10 : 13-14, 1987
- 13) 戸谷拓二, 渡辺泰宏, 藤井 正：膵・胆管合流異常および先天性胆道拡張症における癌発生. 胆と膵 6 : 525-535, 1985
- 14) Ikematsu Y, Tomioka T, Yamanaka S, Tajima Y, Tsunoda T, Kanematsu T : Bilioenterostomy enhances biliary carcinogenesis in hamsters. *Carcinogenesis* 17 : 1505-1509, 1996
- 15) Takahashi M, Fukutake M, Yokota S, Ishida K, Wakabayashi K, Sugiura T : Suppression of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rat colon by nimesulide, a selective inhibitor of cyclooxygenase2. *J Cancer Res Clin Oncol* 122 : 219-222, 1996
- 16) Reddy BS, Rao CV, Seibert K : Evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitor for potential chemopreventive properties in colon carcinogenesis. *Cancer Res* 56 : 4566-4569, 1996
- 17) Taketo MM : Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (Part II). *J Natl Cancer Inst* 90 : 1609-1619, 1998
- 18) Kitayama W, Denda A, Okajima E, Tsujiuchi T, Konishi Y : Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in rat urinary bladder tumors induced by *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. *Carcinogenesis* 20 : 2305-2310, 1999
- 19) Kitayama W, Denda A, Yoshida J, Sasaki Y, Takahama M, Murakawa K, Tsujiuchi T, Tsutsumi M, Konishi Y : Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in rat lung tumors induced by *N*-nitrosobis (2-hydroxypropyl)

- amine. *Cancer Letters* 148: 145-152, 2000
- 20) 村川幸市: N-Nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine による実験的ラット肺発癌に対する抗菌薬: clarithromycin と cyclooxygenase-2 inhibitor: etodolac による抑制効果. *奈良医学雑誌* 51: 407-418, 2000
- 21) Hursting SD, Slaga TJ, Fischer SM, DiGiovanni J, Phang J M: Mechanism-based cancer prevention approaches: targets, examples and the use of transgenic mice. *J Natl Cancer Inst* 91: 215-225, 1999
- 22) Dreher D, Junod AF: Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 32: 30-38, 1996
- 23) Oka H, Yamamoto S, Kuroki T, Harihara S, Murano T, Kim SR, Monna T, Kobayashi K, Tango T: Prospective study of chemoprevention of hepatocellular carcinoma with sho-saiko-to (TJ-9). *Cancer* 76: 743-749, 1995
- 24) International Agency for Research on Cancer, World Health Organization: Schisosomes, liver flukus and *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 61: 177, 1994
- 25) 川口 哲, 上出利光: 細胞接着因子と浸潤・転移. 分子腫瘍学 (佐藤昇志, 菊地浩吉編). 初版. 東京, 中外医学社. 1996, pp 255-269
- 26) 神奈木玲児, 隈元謙介, 丁 剛, 井澤峯子: がん細胞の血管内皮との接着と転移. *最新医学* 55: 1915-1924, 2000
- 27) 小林健一, 松本純夫, 梅本俊治, 加納康裕, 安賀 裕, 森島 隆, 大島 亮, 白石天三, 佐野 真, 山口 仁, 川辺則彦, 水野有朋, 永井研治, 鈴木啓一郎, 岡本 尚: H₂ 受容体拮抗薬の大腸癌転移抑制効果の検討. *Ther Res* 19: 226-228, 1998
- 28) 松本純夫, 梅本俊治, 落合正宏, 安藤幸史, 奥田康一, 瀬戸 明, 高山勝行, 雨宮 哲, 小島正夫, 佐久間正祥, 栗原英二, 前田耕太郎, 貞広荘太郎, 馬場正三, 小平 進: BRM としての Cimetidine の効果. *Biotherapy* 10: 511-515, 1996
- 29) 藤原豊博: H₂ 受容体拮抗剤シメチジンの免疫調節剤としての役割. *Pharma Medica* 16: 145-152, 1998
- 30) 松本純夫, 岡本 尚, 末松 誠: 癌転移と細胞接着分子-シメチジンの可能性と展望. *Medical Tribune* 34: 32-33, 2001
- 31) Nielsen HJ, Nielsen S, Moesgaard F: Ranitidine improves postoperative monocyte and neutrophil function. *Arch Surg* 129: 309-315, 1994
- 32) 大越基弘: プロテアーゼインヒビターとがん. *細胞工学* 11: 611-622, 1992
- 33) 大越基弘: プロテアーゼインヒビターと癌治療. *癌と化学療法* 22: 417-430, 1995
- 34) Ohkoshi M, Akagawa T, Nakajima M: Effects of serine protease inhibitor FOY-305 and heparin on the growth of squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 13: 963-966, 1993
- 35) Furukawa F, Nishikawa A, Imazawa T, Yoshimura H, Sato M, Aze Y, Takahashi M: Blocking effects of synthetic Trypsin inhibitor (Camostat) on Pancreatic carcinogenesis in hamsters initiated with N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine. *Pancreas* 9: 78-82, 1994
- 36) 太田哲生, 二上丈夫, 荒川 元, 月岡雄治, 北川裕久, 菅原正都, 永川宅和, 宮崎逸夫: FOY-305による膵癌の肝転移抑制の可能性について. *癌と化学療法* 23: 1669-1672, 1996
- 37) 伊木勝道, 真嶋敏光, 久保添忠彦, 岩本末治, 小沼英史, 角田 司: ハムスター膵癌における MMP 阻害剤の発癌抑制効果. *日本消化器外科学会誌* 33: 560-563, 2000
- 38) 浅野 昇, 真辺忠夫, 吉村玄浩, 今西勝大, 戸部隆吉: ハムスター膵癌の発癌に及ぼす合成プロテアーゼインヒビターの影響-膵内分泌細胞およびフリーラジカルよりの検討-. *日本外科宝函* 60: 424-434, 1991
- 39) Ghoneum M, Namatalla G, Kim C: Effect of MGN-3 on human natural killer cell activity and interferon- γ synthesis in vitro. *Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 10: 26-32, 1996