

ラットにおける胃酸分泌に及ぼす 促進剤ならびに抑制剤の影響

宮 崎 幸 恵

Effects of some Stimulators and Inhibitors
on the gastric Secretions in Rats

Sachie Miyazaki

緒 言

胃液の分泌に關与する生理的機序は、脳相 (cephalic phase)、胃相 (gastric phase)、および腸相 (intestinal phase) の3つに區別することができる。すなわち脳相は中枢神経の興奮が迷走神経やおそらくは下垂体副腎を介して胃に作用するしくみ、胃相は胃粘膜への局所的刺激すなわち物理的あるいは化学的¹⁾刺激に応ずる胃液分泌のしくみ、腸相は小腸粘膜における神経反射または消化管ホルモンの影響による胃液分泌の調節のしくみである。実際にはこれら3機序はお互いに重なり¹⁾あって作用しており、これら3つの生理的機序は、内因性・外因性・化学的・物理的な刺激により大きく影響されるといわれている。

そこで本実験ではラットを用いて、まず迷走神経の伝達物質であるアセチルコリン (Acetylcholine) と胃腸ホルモンの一種である合成ペプタガストリン (Gastrin) およびヒスタミン (Histamine) の3種類の物質による胃酸分泌の促進現象を調べた。これらの物質は、胃酸分泌を促進する効力を持つとされているが量的および経時的な効力については、明確にされていない。そこでそれらの点を調べることにより、アセチルコリンを与えた場合の実験結果から脳相を、ガストリンおよびヒスタミン²⁾を与えた場合の実験結果から胃相の作用機序を検討した。

さらにこれらの物質に拮抗すると考えられる EGF* (Epidermal Growth Factor)、シメチジン (Cimetidine) およびアトロピン (Atropine) による胃酸分泌抑制の様相を観察し、胃酸過多等の症状を軽減したり潰瘍の予防あるいは阻止剤としての効果の有無を検討した。以下その結果の詳細を報告する。

*EGF: Mouse の Epidermal Growth Factor であり、分子量6040の物質。

実験材料

供試動物：体重 300 g 前後（7～8 週齢）の Sprague Dawley 系 SPF，雄性ラット（オリエンタル酵母株）を室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ，湿度 $50 \pm 5\%$ ，照明条件 14L10D で 1 ケージに 4～5 匹ずつ群飼し，供試前日あるいは前々日に単飼したものをを用いた。水は水道水を自由摂取させ，飼料は市販のラット，マウス繁殖用固型飼料（日本クレア，CE-2）を自由摂取させた。なお，単飼した時点から水道水と角砂糖のみを投与し，胃内滞留物が極力少なくなるようにした。

試薬：胃酸分泌促進剤としてペンタガストリン（住友化学製），アセチルコリン（名古屋片山化学製）を用いた。胃酸分泌抑制剤として EGF（Japan Chemical Research 製），シメチジン（S.K.F 社製）およびアトロピン（扶桑薬品製）を用いた。麻酔剤としてカルバミル酸エチル（別名ウレタン，名古屋片山化学製）を用いた。

カニューレ：気管カニューレ（ストラープカニューレ，夏目製作所製），胃カニューレ（内径 $\phi 2.5\text{ mm}$ ，夏目製作所製），大腿静脈カニューレ（内径 0.51 mm ，外径 1.52 mm ，Thermoplastic 製），ネラトンカニューレ（4号，テルモ製）を用いた。なお，縫合糸は，No. 560-No. 3号（夏目製作所製）を用いた。

器機：保温箱は木製， $40\text{ cm} \times 20\text{ cm} \times 25\text{ cm}$ （夏目製作所製），マイクロチューブポンプは MP-3型 および MP-101型（東京理化製），フラクションコレクターは，SF-160K（東洋科学産業製）を使用した。また恒温槽は，ラボサーモ LH800E（東洋科学産業製）を用いた。

実験方法

1. 麻酔の方法

カルバミル酸エチル 25% (W/V) 溶液を $0.5\text{ ml}/100\text{ g}$ 体重投与を標準とした。まず総投与量の半量を腹腔内投与し，5分後角膜反射，痛覚反射だけが残ったとき，残量を 2カ所に分けて皮下投与した。また，自発運動だけが残っているときは残量に 0.1 ml を加え，角膜反射，痛覚反射も消失していた場合は，残量から 0.1 ml を減じて投与した。

2. カニューレの装着方法（図1）³⁾

a. 気管カニューレの装着

固定板に背部を下にし 4 肢を保定後，電気バリカンで頸部，上腹部，右大腿部内側の毛を刈りとり，気管を約 2 mm 切開した。この部位に

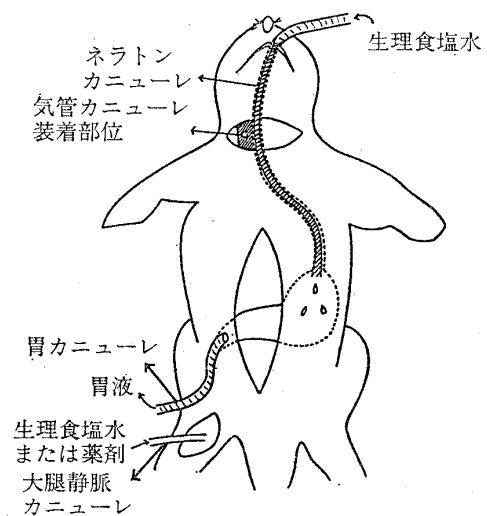


図1 カニューレの装着

気管カニューレを装着し、縫合糸で結び固定した。

b. 胃カニューレの装着

腹部を肋骨の最下辺で横に約3 cm 切開し、胃および十二指腸をひき出しておき、このうち前胃部を3 mm 程度切開した。前胃部切開口より、約37°C の生理食塩水で胃内部を洗浄後胃カニューレを挿入し、次いで十二指腸の最上部を切開した。この切開口より胃カニューレ先端部を露出させ、他端部は幽門口に滞るよう縫合糸で二重に結び固定した。次に前胃切開部を縫合後胃および十二指腸を腹腔に戻し、胃カニューレ（十二指腸切開口よりの端部）のみを体外部に出して腹壁を縫合した。なお体外に露出させた胃カニューレにはゴム管を接続し、この端部は採集用の試験管に導いた。また前胃部に生理食塩水で湿らせた脱脂綿を置き、乾燥によるストレスを防止した。

c. ネラトンカニューレの装着

口から前胃部までの距離は、切歯から胸骨の剣状突起までの距離にほぼ等しいので、これを目安としてネラトンカニューレをその先端部が前胃まで到達するように挿入した。次いでカニューレの体外部端をゴム管に連結し、恒温槽で37°C に保った生理食塩水をマイクロチューブポンプにより一定量流入させた。

d. 大腿静脈カニューレの装着

右大腿部内側を長骨の方向に切開し、大腿静脈を露出させ、この静脈のまわりに2本の縫合糸を通して遠位の糸を結び、近位の糸はゆるく結んでおき、両糸間の静脈をメスで1 mm程度切開しカニューレを装着した。なおこの静脈カニューレの先端部が後大静脈の合流点近くまで達するように挿入し、これを血管と共に縫合糸で結び固定した。またカニューレの他端は連続注入器（マイクロチューブポンプ）に連結した。

上記 a, b, c, d のカニューレ装着後、ラットを35°C の保温箱に入れ、恒温にして実験に供した。

3. 灌流液量の決定

生理食塩水を用い、10分間あたりの胃灌流液量を $4 \pm 0.5 \text{ ml}$ 、 $7 \pm 0.5 \text{ ml}$ 、 $14 \pm 0.5 \text{ ml}$ の3段階とし、それぞれマイクロチューブポンプを用いてネラトンカニューレにより口から強制的に注入した。この場合、胃カニューレより流出する量はほぼ注入量に等しかった。以上のようにして胃カニューレより流出した液をフラクションコレクターに接続した採集管に10分毎に採取し、それにフェノールフタレインを1滴添加後1/100N-NaOH 溶液で中和滴定して得られた滴定値 (ml) を10倍して HCl $\mu \text{ Eq}$ 値とした。上記結果から、胃酸濃度がラットの正常胃酸分泌量である約 $2.5 \mu \text{ Eq}$ となった $7 \pm 0.5 \text{ ml}$ を10分間あたりの灌流液量と決定した。

なお、手術後約15分で正常の胃酸分泌量に達したラットを以下の実験に供した。

4. ガストリン・ヒスタミン・アセチルコリンの投与方法

ネラトンカニューレから生理食塩水で胃内を灌流する一方 ($7 \pm 0.5 \text{ ml}/10 \text{ 分}$)、脱水による

ストレスを防ぐため大腿静脈へ生理食塩水を1時間あたり2 ml の割合で連続注入した。次いで胃酸分泌量が一定となった時点より大腿静脈につないだ三方栓を用いて生理食塩水に溶解したペントガストリン、塩酸ヒスタミンおよびアセチルコリンを、投与量を変化させて断続的に注入した。

5. 胃酸分泌促進剤注入時における胃酸分泌抑制剤 EGF, シメチジンおよびアトロピンの投与方法

ネラトンカニューレから生理食塩水で胃内を灌流する一方、前述実験で胃酸分泌促進作用が確認されたペントガストリン・塩酸ヒスタミン・アセチルコリンを大腿静脈へ1時間あたり2 ml の割合でマイクロチューブポンプにより連続注入した。胃酸分泌量が多くなり一定になった時点に大腿静脈カニューレに装着した三方栓を用いて胃酸分泌促進剤と切り換えて胃酸分泌抑制剤を断続的に投与し、胃酸分泌抑制作用を観察した。胃酸分泌抑制剤は生理食塩水で種々の濃度に溶解し、約5秒間で投与した。

実験結果

1. 胃酸分泌促進剤による胃酸分泌の変化

1) ガストリンによる胃酸分泌の変化

図2は、ガストリンを10 μ g/kg 体重、5 μ g/kg 体重の割合で静注した場合の胃酸分泌量の変化を示したものである。10 μ g/kg 体重を投与した場合は急速な胃酸分泌がおり、その現象は40分間持続した。5 μ g/kg 体重を投与した場合は、10 μ g/kg 体重投与に比較してゆるやかな胃酸分泌の上昇がみられ、持続時間も20分と短かった。また同じ投与量でも、2回目に現われた胃酸分泌の上昇度は1回目に比べ低かった。

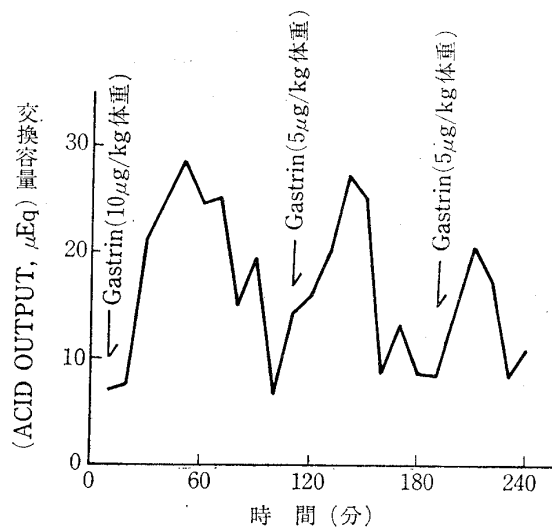


図2 ガストリンによる胃酸分泌量の変化

表1. ラットにおけるガストリン投与量を変化させた場合の胃酸分泌量

ガストリン投与量 (μ g/kg 体重)	5	2.5	1.25	1	0.9	0.75
胃酸分泌量の変化	卍	卍	卍	+	±	-

卍：正常胃酸分泌量の8~10倍に上昇 ($n=3$)
 卍：正常胃酸分泌量の5~6倍に上昇 ($n=5$)
 卍：正常胃酸分泌量の3~2倍に上昇 ($n=3$)
 +：正常胃酸分泌量の2~1.5倍に上昇 ($n=3$)
 ±：正常胃酸分泌量と同等 ($n=8$)
 -：正常胃酸分泌量と同等 ($n=5$)

また、ガストリンの投与量を $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $1.25 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と変化させてその最小有効量について検討した結果、それは $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であった(表1)。

2) ヒスタミンによる胃酸分泌の変化

図3はヒスタミンを $3 \text{mg}/\text{kg}$ 体重静注した場合の胃酸分泌量の変化を示したものである。ここでは、胃酸分泌が促進され分泌量が多くなった。また、ヒスタミン投与量を $2 \text{mg}/\text{kg}$ 体重および $1 \text{mg}/\text{kg}$ 体重と減じた場合、胃酸分泌量は投与量に比例して減少した。なお、最小有効量は $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重となり、これはガストリンに比較して100倍量であった。

3) アセチルコリンによる胃酸分泌の変化

アセチルコリン投与により、胃酸分泌は促進されることが確認できた(図4)。なお、最小有効量については、死亡例が多かったため算出できなかった。

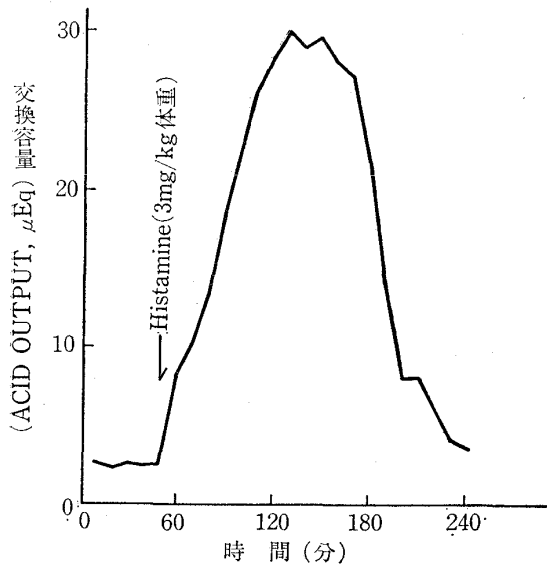


図3 ヒスタミンによる胃酸分泌量の変化

2. 胃酸分泌抑制剤による胃酸分泌の変化

1) EGF による胃酸分泌の変化

EGF を $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与した場合は、ヒスタミンの連続注入によって引き起こされた胃酸分泌促進現象を抑制した(図5)。個体によっては正常の胃酸分泌も抑制した。 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与した場合は、すべての実験例において胃酸分泌が抑制された。しかし正常の胃酸分泌は抑制されなかった。また効力持続時間は、

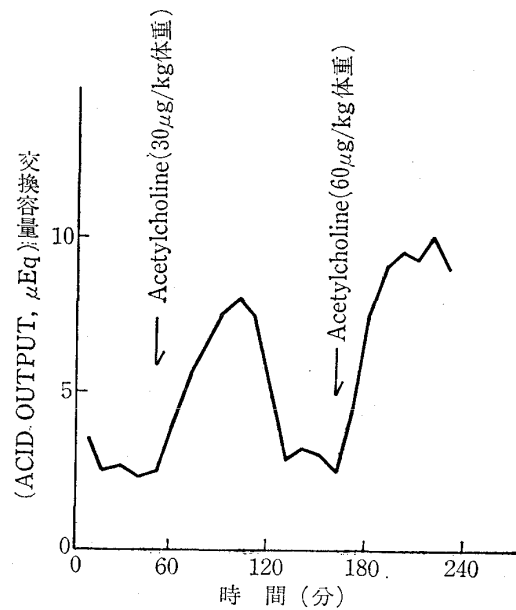


図4 アセチルコリンによる胃酸分泌量の変化

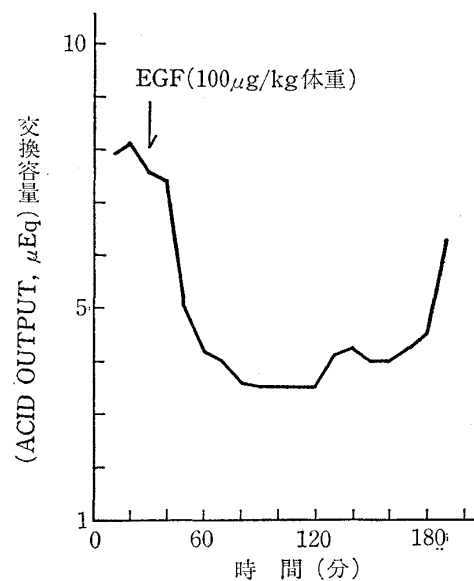


図5 ヒスタミン連続投与($500 \mu\text{g}/2\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$)時におけるEGFによる胃酸分泌量の変化

100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与の場合と比べ短くなった (図6)。

2) シメチジンによる胃酸分泌の変化

ヒスタミンの連続注入により上昇した胃酸分泌量は、シメチジンを投与した場合急速に低下した (図7)。また最小有効量は 5 mg/kg 体重であった。

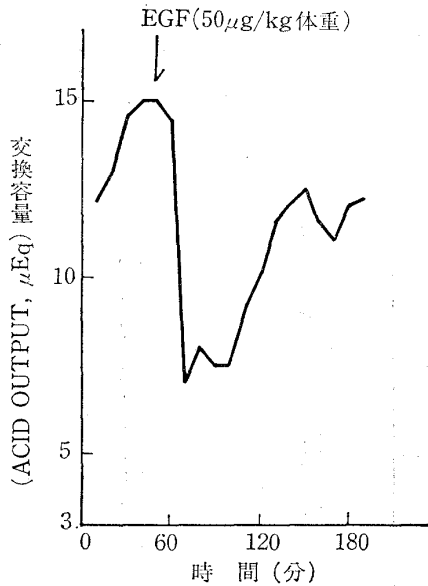


図6 ガストリン連続投与 (44 $\mu\text{g}/2\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$) 時における EGF による胃酸分泌量の変化

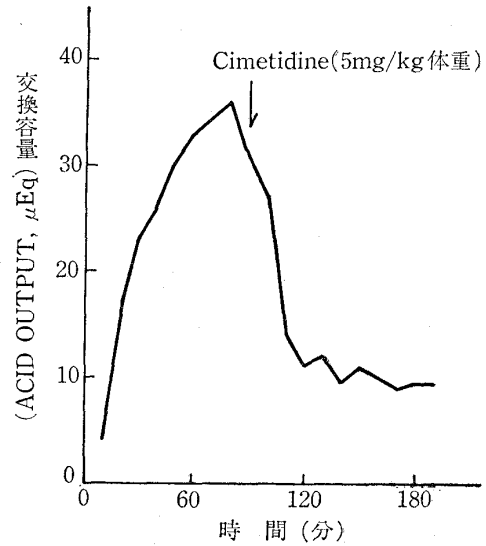


図7 ヒスタミン連続投与 (3 $\text{mg}/2\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$) 時におけるシメチジンによる胃酸分泌量の変化

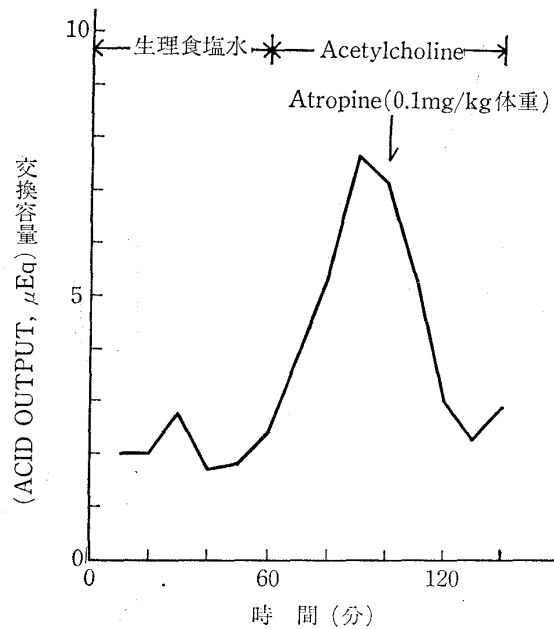


図8 アセチルコリン連続投与 (200 $\mu\text{g}/2\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$) 時におけるアトロピンによる胃酸分泌量の変化

3) アトロピンによる胃酸分泌の変化

アトロピン 0.1 mg/kg 体重を投与した場合、アセチルコリンの連続注入により上昇した胃酸分泌量は30分後正常に達した。

考 察

以上の結果より、ガストリン投与による胃酸分泌促進現象は顕著にあらわれた。

Grossmann⁵⁾らの報告(1949)によれば、人の場合の最小有効量は $15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重前後とされているが、本実験の結果、ラットでは $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重となり、両者の間では大きな相違がみられた。また Feldberg⁶⁾らの報告(1953)では、犬の場合最小有効量は $7\sim 8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であり、これと比較しても本実験の最小有効量は著しく少ない。ガストリン投与による胃酸分泌促進作用は、図2に示すように同量を与えた場合でも2回目の方が1回目の場合より弱かった。これは、ガストリンに対する耐性効果により減少したためと考えられる。なお、投与量を増加させると胃酸分泌量も増加した。

ヒスタミン投与により胃酸分泌は促進されたが、この最小有効量は $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重で人の $35 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重⁷⁾や犬の $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重⁸⁾に比較して大量であった。

迷走神経の伝達物質であるアセチルコリンを投与すると図4に示すように胃酸分泌促進現象があらわれた。なお、この例では実験途中で死亡する例が多かったため最小有効量を求めることはできなかったが、 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与した場合にはほとんど変化がなかったことから、それは $10\sim 30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と思われる。また $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時間の割合で連続注入した場合、胃酸分泌量の上昇度は同量のガストリン投与の場合とほぼ同等であったので、これはガストリンと同程度の効力を持つと考えられる。また、アセチルコリンが迷走神経の伝達物質であるという性質上持つ必然性として他の内因子にも大いに関与すると考えられ、この点も死亡例の多かった原因の1つと思われる。

薬剤 EGF およびシメチジンは、ともにガストリンおよびヒスタミンにより促進された胃酸分泌作用を抑制した。また、投与量を多くすると抑制作用も強く働いた。以上の点から、これら薬剤はラットにおいても胃酸分泌抑制作用を持つことが確認された。しかし、これらが胃相に直接的に働くのか、あるいは脳相、腸相に働くのか、またこれらがどのようにその効力を発揮しているのかという点について今後さらに検討していくべきであろう。

アトロピンを投与すると、アセチルコリン静注によって促進された胃酸分泌促進作用が抑制された。アセチルコリンとアトロピンの拮抗関係は、人や犬の場合ではすでによく知られているが、本実験によりラットでも同様であることが確認された。これらの結果より、アトロピンは胃酸過多現象を鎮静する可能性を持つと考えられるが、単に胃酸分泌抑制を目的として使用することは危険である。なぜなら、これら薬剤の投与実験で多くの死亡例がみられた点を考えると、他の内因子に大きく影響を及ぼすのではないかという危惧も生ずるからである。従ってこれら問題点を検討の上、薬剤としての有効性を判定する必要があると思う。

要 約

ラットにおける胃酸分泌に及ぼす分泌促進剤および抑制剤の影響を調べるため K. S. Lai の方法に準じて胃の灌流実験を行なった結果、次の点が判明した。

1. ガストリン (Gastrin), ヒスタミン (Histamine), アセチルコリン (Acetylcholine) ともに胃酸分泌を促進したが, その最小有効量の点でヒスタミンでは人や犬と比べて大きな差がみられ, 大量を必要とした。

2. EGF, シメチジン (Cimetidine), アトロピン (Atropine) はともに胃酸分泌作用を抑制することが確認できた。

なおこの研究遂行にあたり, 実験動物ならびに器機の一部は, Japan Chemical Research の助成によった。

また, 本文の要旨は第25回家政学会中部支部会において発表した。

参 考 文 献

- 1) Grossmann, M. I., "Integration of Neural and Hormonal Control of Gastric Secretion." *The physiologist*, 6, 349 (1963)
- 2) Speakman, T.J and B.P Babkin, *Amer. Jour. Physiol.* 159(2) 239-246 (1950)
- 3) Lai, K. S., *Gut* 5. 327 (1964)
- 4) *J. Takeda Res. Lab.* 32 (2) 181-187 (1973)
- 5) Krasnow, Sheldon, and M. I. Grossmann, *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.* 71 (3) 335-336 (1949)
- 6) Feldberg, W. and C.C. Toh., *Jour. Physiol.* 119 (2/3): 352-362 (1953)
- 7) Schayer, Richard W. and John A. D. Cooper, *Jour. Appl. Physiol.* 9 (3): 481-483 (1956)
- 8) Babkin, B.P. and T. J. Speakman *Jour. Neurophysiol.* 13 (1) 55-63 (1950)
- 9) Smith, Adam N., *Brit. Jour. Surg.* 46 (196): 157-163 (1958)