

噴門括約機構における VIP の関与と 食道アカラシアの病態生理

山口大学医学部外科学教室第2講座（指導：石上浩一教授）

丹 黒 章

〔原稿受付：昭和60年9月12日〕

Effect of VIP on the Cardiac Closing Mechanism and Pathophysiology of Achalasia of the Esophagus

AKIRA TANGOKU

The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine
(Director: Prof. Dr. KOICHI ISHIGAMI)

The effect of vasoactive intestinal polypeptide on the lower esophageal sphincter was investigated in adult normal mongrel dogs and phenol-injected experimental achalasia dogs.

- (1) The potency ratio of VIP to secretin for reduction of resting pressure was 5 : 1.
- (2) That of tetragastrin-stimulated pressure was 7:1.
- (3) The reduction ratio of VIP for resting and tetragastrin-stimulated pressure in achalasia dogs was twice as much as in normal dogs.
- (4) Patients with achalasia also showed hypersensitive response to secretin.
- (5) Immunohistochemical studies was performed on the specimens excised from normal dogs, achalasia dogs, patients with esophageal varices as control and patients with achalasia.

In normal dogs and control patients, VIP-immunoreactive nerve cells and fibers were seen in myenteric plexuses and muscle layer. Achalasia dogs and achalasia patients had fewer VIP-reactive nerves.

(6) Therefore, reduced number of VIP-nerves in achalasia esophagus contributes to incomplete relaxation of the esophagogastric junction.

It is suggested that degenerative changes exist in postganglionic parasympathetic plexus components of the achalasia subjects. And VIP is supposed to be a new substance available for diagnosis and treatment of achalasia.

Key words: Cardiac closing mechanism, LES, Achalasia, VIP, Secretin.

索引語：噴門括約機構，下部食道括約筋，食道アカラシア，VIP，セクレチン。

Present address: The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, 1144 Kogushi, Ube 755, Japan.

はじめに

噴門括約機構のうち胃より食道への逆流防止に関して一番重要な役割を演じている下部食道括約筋 LES は様々な神経性および体液性因子により制御されており、最近とくに各種消化管ホルモンと食道運動機能との関係が議論されている。今回の研究では、Said^{40,41)}, Mutt²⁹⁾ らによりブタ小腸より抽出され、neurotransmitter としても注目されている VIP (vasoactive intestinal polypeptide) を使用し、LES に対する作用を食道内圧検査を用いて検討した。対照として VIP にアミノ酸構造の類似したセクレチンを用いた(図1)。また Deloyer¹⁰⁾ の方法により食道アカラシアモデル犬を作成し、VIP の作用を検討した。実験動物および臨床例について免疫組織学的にも検索を行い、食道アカラシアの病態生理について検討を加えた。

実験方法および材料

I. 食道内圧測定実験

体重 7~10 kg の雑種成犬を使用し、24時間絶食のちペントバルビタール静注下に背臥位とし、気管内挿管をして ventilator (AIKA, R-60) による人工呼吸を行った。経口的に食道内圧測定用ポリエチレンチューブ (日本シューウッド社製、内径 1.3 mm, 長さ 100 cm, 側孔式) を挿入し、オープンチップ法^{18,33,37)} によって測定を行った。チューブ中枢端は水注入用ポンプで 30 ml/時の水を回路内に constant infusion しながら³⁾ Y字管の一方に連結された低圧用トランスデューサー (Gould Statham instruments inc. P 231D) に接続し、チューブ遠位端を胃内に挿入し、下部食道昇圧帯をこえてゆっくりとひき抜き、波形をポリグラフ

Secretin

His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-
Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Asp-Ser-Ala-Arg-
Leu-Gln-Arg-Leu-Gln-Gly-Leu-Val-NH₂

VIP (Vasoactive intestinal polypeptide)

His-Ser-Asp-Ala-Val-Phe-Thr-Asp-Asn-
Tyr-Thr-Arg-Leu-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-
Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Asn-Ser-Ile-Leu-
Asn-NH₂

図1 VIP およびセクレチンのアミノ酸組成

フ (日本光電 RM-6000) に増幅、記録させた(図2)。各圧は食道内圧を 0 点として測定し、cm H₂O で記録した。

(1) 麻酔深度と LES 圧

麻酔深度により LES 圧がどう変化するかを知る目的で、雑種成犬について、10, 15, 20, 25, 30 および 35 mg/kg の Nembutal を静注し、経時的に引き抜き法により LES 圧を記録した。

(2) 薬剤効果時間

8 kg の雑種成犬を用い、LES が充分安定したことを確認し、内圧測定用チューブの側孔を下部食道昇圧帯に固定し、セクレチン (エーザイ製薬, セクレパン) 50 IU を one shot で静注し経時的に LES 圧を記録し、薬剤効果時間を決定した。

(3) 食道内圧と血中ガストリン濃度の経時的変化

雑種成犬 2 匹を用い、Nembutal 25 mg/kg 静注による全身麻酔下に開腹して、カットダウンチューブを脾静脈を介して門脈内に挿入し、経時的に LES 圧を測定する一方、同時に採血した門脈血中ガストリン濃度をダイナポット法で測定した。

(4) 食道アカラシアモデル犬の作成

雑種成犬に全身麻酔下に挿管し、左開胸後、横隔膜直上にて Deloyer の方法¹⁰⁾ により、LES の Auerbach 神経叢を破壊する目的で、5%フェノールを外縦走筋と内輪筋との間に注入し、1ヶ月後に生存した 5 匹について引き抜き法による安静時 LES 圧を測定する一

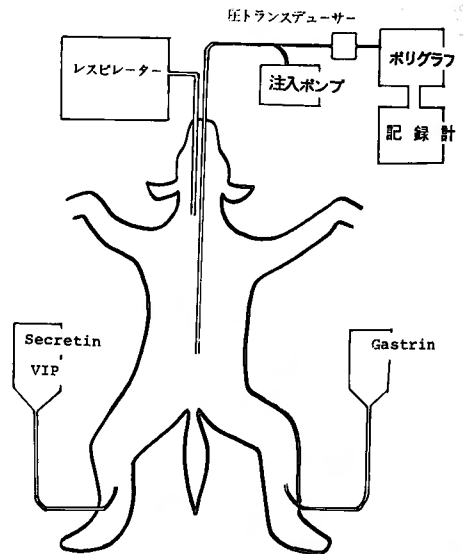


図2 食道内圧測定方法

方, テトラガストリン 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 静注による刺激時 LES 圧を測定した。

II. VIP の食道内圧におよぼす影響

(1) 正常犬に対するセクレチンおよび VIP の作用
 雑種成犬 5 匹を用い Nembutal 25 mg/kg 静注による全身麻酔下に背臥位とし, レスピレーターを装着し, 経口的に食道内圧測定用チューブを挿入し, 麻酔が安定したところで LES 圧を測定 (Rc) したのち, 四肢の血管よりセクレチン (エーザイ製薬 セクレパン 15000 IU=1 mg) を点滴静注し, 点滴開始後 5 分にて LESP を測定 (Rm) し, 1, 2, 4, 8 および 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 時の各点滴速度についてパーセント LESP ($Rm/Rc \times 100$) を測定, 記録した。また 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のテトラガストリン (帝国臓器) を静注直後, LES 圧を測定 (Sc) し, テトラガストリンの効果が消失した時点で, セクレチンを 1, 2, 4, 8 および 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 時の各濃度で点滴静注し, 5 分後別のルートより 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のテトラガストリンを静注して LES 圧を測定 (Sm) し, ガストリン刺激時におけるパーセント LESP ($Sm/Sc \times 100$) を記録した。同様に VIP (porcine, BACHEM inc FINE CHEMICAL) の 1, 2, 4, 8 および 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 時点滴静注時におけるパーセント静止内圧 ($Rm/Rc \times 100$), さらにテトラガストリン 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ one shot 静注時におけるパーセント LESP ($Sm/Sc \times 100$) を測定・記録した。それぞれの測定はランダムに行った。

(2) 食道アカラシアモデル犬に対するセクレチンおよび VIP の作用

食道アカラシアモデル犬 4 匹についてセクレチン及

び VIP の 1, 2, 4, 8 および 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 時点滴静注 5 分後のパーセント静止内圧 ($Rm/Rc \times 100$) を測定し, さらにテトラガストリン 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 静注時についての各濃度におけるパーセント圧変化 ($Sm/Sc \times 100$) を記録した。

III. 臨床例における内圧の測定

正常成人男子 3 名および食道アカラシア患者 2 名について open-tip 法による食道内圧測定を行い, さらにセクレチン 3 IU/kg one shot 静注後の内圧変化を測定・記録した。

IV. 免疫組織学的検索

MILAB ICC-KIT vasoactive intestinal polypeptide (藤沢薬品工業) を用いて抗 VIP ウサギ血清 (1:250, Immunogen. pure porcine VIP, Karolinska Institute) を一次抗体, 抗ウサギ IgG ヤギ血清を 2 次抗体とする PAP (Peroxidase anti peroxidase) 法²⁸⁾により VIP receptor の検索を正常犬, 食道アカラシアモデル犬, 正常ヒト (経腹的食道離断術時に採取した標本) および食道アカラシア患者について行った。

実験成績

I. 食道内圧測定

(1) 麻酔深度と LES 圧

各麻酔深度における LES 圧を経時的に測定したところ (図 3), Nembutal 10 mg/kg , 15 mg/kg では覚醒があまりにはやく測定には不相当と考えられた。20 mg/kg では LES 値にばらつきがみられた。25 mg/kg 以上では LES 圧は安定していたが, 30 mg/kg および

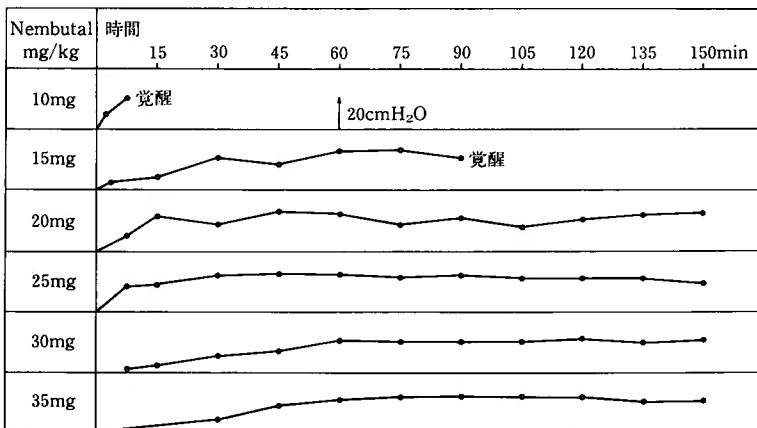


図 3 麻酔深度による LES 圧の経時的変化

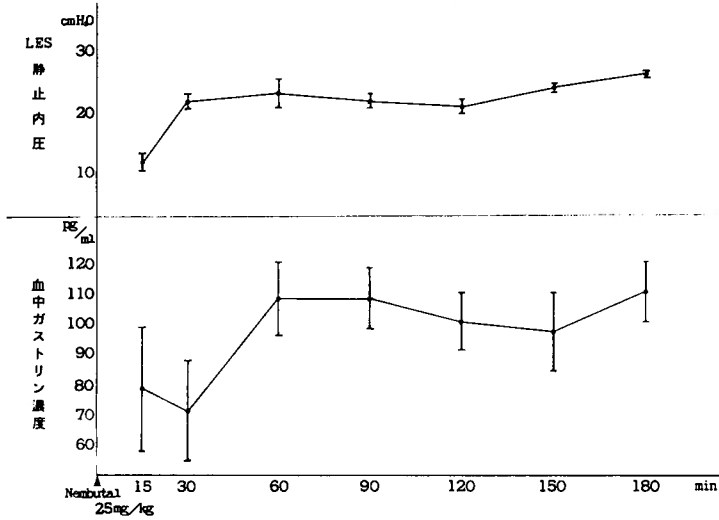


図4 LESP と血中ガストリン値の経時的変化

35 mg/kg では60分を過ぎないと安定した LES 圧が出現しなかったため、本実験では 25 mg/kg one shot 静注を採用することとした。

(2) 食道内圧と血中ガストリン濃度の経時的変化について (図4)

Nembutal 25 mg/kg one shot 静注全身麻酔下における雑種成犬の食道内圧は注射後30分より180分までは安定しており、一方血中ガストリン濃度はダイナポット法による測定で60分より120分まで安定した値を示した。以上の成績より食道内圧の測定は Nembutal 25 mg/kg 静注後60分より120分の間に行うことにした。

(3) 薬剤効果時間 (図5)

LES 圧が安定したところで内圧測定チューブを呼吸変換点より1cm口側に固定し、LES 圧の変化を経時的に記録したところ、セクレチンによる LES の弛

緩は注射後60秒より始まり、11分30秒後に復帰した。これより、セクレチンおよび VIP の点滴静注による食道内圧の測定は点滴開始後5分に行うこととした。

(4) 食道アカラシアモデル犬の作成

5%のフェノールを LES に注入して Auerbach 神経叢を破壊し、術後1ヶ月して生存した食道アカラシアモデル犬5匹および正常雑種成犬5匹について引き抜き法によって食道内圧を測定し、静止内圧およびテトラガストリン 5 μg/kg one shot 静注による圧変化を記録したところ、静止内圧は正常群では 27.98 ± 2.68 cm H₂O、食道アカラシアモデル犬群では 32.54 ± 3.76 cm H₂O であり、後者において静止内圧の上昇を認め、さらにガストリン刺激時の内圧は正常群で 48.35 ± 5.28 cm H₂O、食道アカラシア群で 64.32 ± 4.33 cm H₂O (図6) であり、後者において有意に (p < 0.05) 強いガストリンに対する過敏反応を認めた。

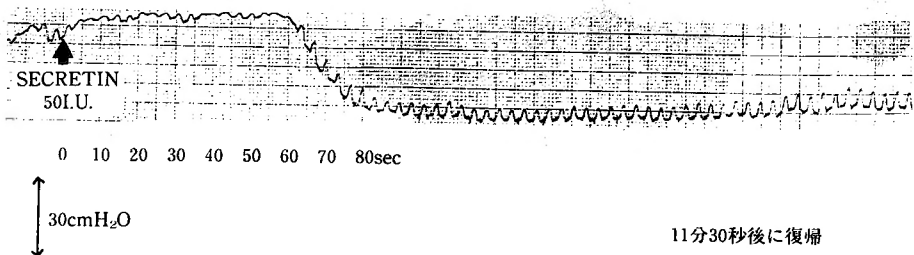


図5 薬剤効果時間

8 kg の雑種成犬にセクレチン 50 IU を one shot 静注したところ LESP は直ちに低下した。その効果持続時間を測定した。

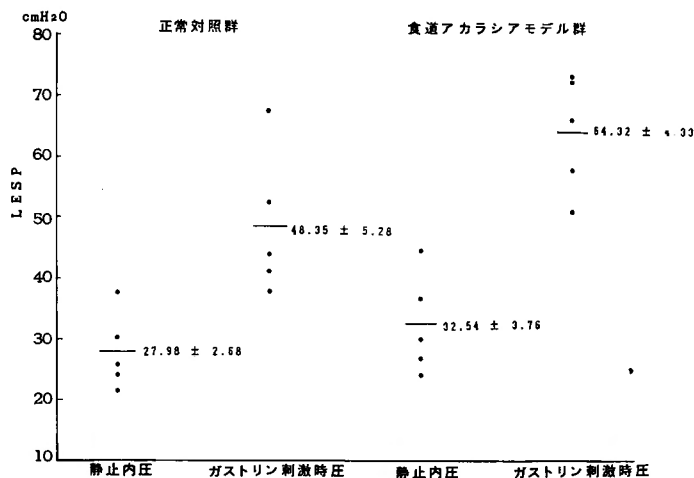


図6 正常犬と食道アカラシアモデル犬における LES 静止内圧およびテトラガストリン刺激圧

食道アカラシアモデル犬では正常犬に比べ有意に ($p < 0.05$) 強い静止内圧上昇及びテトラガストリンに対する過敏反応を示した。

II. セクレチン及び VIP の食道内圧に及ぼす影響

(1) 正常犬に対する反応

セクレチンまたは VIP の非投与時の LES 圧を 100%として、セクレチンまたは VIP 点滴静注後の静止内圧の変化 ($Rm/Rc \times 100$)、さらにテトラガストリン 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 静注時における LES 圧の変化 ($Sm/Sc \times 100$) を表 1 に示す。

(2) 食道アカラシアモデル犬に対する反応

食道アカラシアモデル犬 4 匹についてセクレチンまたは、VIP 非投与時の LES 圧を 100 として、セクレチンまたは VIP 点滴静注後の静止内圧の変化 ($Rm/Rc \times 100$)、テトラガストリン刺激時における LES 圧の変化 ($Sm/Sc \times 100$) を測定した (表 2)。それぞれの結果についてセクレチンおよび VIP の濃度を 2 を底とする対数変換を行い、縦軸を LES 抑制率 (%) として Probit 変換を行い、平行検定法⁴²⁾を行ったところ、それぞれの群は直線に回帰した ($P < 0.01$)。また、それぞれの群に共分散分析を行った結果、各群間の回帰係数に差はなく、平行と認められ、その切片を比較したところ、それぞれについて差を認めた。各群の 50%抑制率を比較すると、正常犬においては、静止内圧は、セクレチン投与群で 85 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ 、VIP 投与群では 17 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ 、テトラガストリン刺激時圧は、セクレチン投与群では 85 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ 、VIP 投与群では 12 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ であった。食道アカラシアモデル犬にお

いては、静止内圧は、セクレチン投与群では 57 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ 、VIP 投与群では 9 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ 、テトラガストリン刺激時圧は、セクレチン投与群では 29 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ 、VIP 投与群では 7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ であった (表 3)。それぞれを比較すると VIP はセクレチンに対して静止内圧で 5 倍の抑制効果を示した ($P < 0.01$)。またテトラガストリンによる LES 収縮作用に対して VIP はセクレチンに対して約 7 倍の抑制効果を示した ($P < 0.01$)。また食道アカラシア犬においては正常犬に比して VIP の静止内圧抑制効果は 2 倍強く ($P < 0.1$)、一方テトラガストリンによる LES 上昇作用の抑制効果は正常犬に比しては 2 倍の強さで認められた ($P < 0.1$) ことから、食道アカラシアモデル犬は VIP に対して過敏反応を示す傾向にあった。

III. 臨床例における内圧の測定

ヒトに対するセクレチンの LES 弛緩作用を、コントロールとして 3 名の成人男子および 2 名の男子食道アカラシア患者について、open-tip 法による内圧検査を行って比較した。セクレチン 3 IU/kg の静注によりコントロール群、食道アカラシア群とも LES 圧は有意に低下した ($P < 0.05$)。コントロール群では、セクレチン投与前後において内圧は、26.7→23.3 $\text{cm H}_2\text{O}$ 、20→16.7 $\text{cm H}_2\text{O}$ 、21.7→20 $\text{cm H}_2\text{O}$ であった。最近経験した 2 名の男子食道アカラシア患者についてセクレチンの反応を同様に調べてみると、40→30

表1 正常犬におけるセクレチン, VIP 投与による%静止内圧 ($R_m/R_c \times 100$), %ガストリン刺激圧 ($S_m/S_c \times 100$) の変化

(1) セクレチン投与時%静止内圧 ($R_m/R_c \times 100$)

症例 No.	0	1	2	4	8	16 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	100	96	94	93	88	83
2	100	93	92	86	73	63
3	100	98	83	71	68	64
4	100	87	86	82	81	75
5	100	91	89	88	83	72

(2) VIP 投与時%静止内圧 ($R_m/R_c \times 100$)

症例 No.	0	1	2	4	8	16 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	100	90	87	82	54	46
2	100	89	81	70	55	50
3	100	94	92	69	62	57
4	100	81	79	63	59	50
5	100	93	83	82	73	64

(3) セクレチン投与時%ガストリン刺激時圧 ($S_m/S_c \times 100$)

症例 No.	0	1	2	4	8	16 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	100	90	82	90	83	73
2	100	85	86	81	75	71
3	100	99	93	86	86	81
4	100	97	89	77	72	60
5	100	93	91	90	82	80

(4) VIP 投与時%ガストリン刺激時圧 ($S_m \times S_c \times 100$)

症例 No.	0	1	2	4	8	16 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	100	88	73	52	46	22
2	100	81	71	57	32	31
3	100	93	91	82	75	63
4	100	88	85	63	60	55
5	100	90	86	73	68	64

cm H_2O , 48→37.5 cm H_2O であった。コントロール群におけるセクレチン投与前・後での LESP の低下 (2.8 ± 0.95 cm H_2O) と食道アカラシア群における LESP の低下 (10.25 ± 0.35 cm H_2O) について両群間で差を比較してみると、食道アカラシア群が有意に強い ($P < 0.01$) 低下作用を示した (図7)。

IV. 免疫組織学的検索

正常犬の LES 組織を採取し、ブアン固定液にて2～4時間固定を行い、脱水過程を経て、軟パラフィン (融点 46～48°C) にて包埋後、4 μm の薄切切片を作

製し、抗 VIP 抗体をもちいた PAP 法により染色したところ、正常犬組織では、Auerbach 神経叢および筋層内に VIP 抗体に反応する神経細胞および神経線維を認めた (写真1, 2)。食道アカラシアモデル犬の組織では、Auerbach 神経叢は破壊され、円形細胞の浸潤、コラーゲン線維の増生を認め、VIP 神経の著明な減少を認めた (写真3)。経腹の食道離断術時に採取したヒト食道組織を PAP 法にて染色したところ、Auerbach 神経叢および LES 内に VIP 神経細胞および神経線維をみとめた (写真4)。食道アカラシア患者

表2 食道アカラシアモデル犬における%LESPのセクレチン, VIP投与による変化
(1) セクレチン投与時%静止内圧 (Rm/Rc×100)

症例 No.	0	1	2	4	8	16μg/kg/時
1	100	95	88	83	77	63
2	100	84	80	70	61	47
3	100	93	94	88	84	78
4	100	92	88	90	76	74

(2) VIP投与時%静止内圧 (Rm/Rc×100)

症例 No.	0	1	2	4	8	16μg/kg/時
1	100	94	87	77	47	37
2	100	81	37	33	39	25
3	100	90	76	63	57	40
4	100	96	94	83	69	62

(3) セクレチン投与時%ガストリン刺激圧 (Sm/Sc×100)

症例 No.	0	1	2	4	8	16μg/kg/時
1	100	96	83	93	84	67
2	100	73	88	69	63	55
3	100	94	88	81	75	59
4	100	62	59	53	50	35

(4) VIP投与時%ガストリン刺激圧 (Sm/Sc×100)

症例 No.	0	1	2	4	8	16μg/kg/時
1	100	88	85	38	37	24
2	100	94	91	73	55	46
3	100	91	68	36	32	32
4	100	75	66	64	50	52

表3 容量反応曲線

セクレチンおよびVIPの濃度を2を底とする対数変換を行い,縦軸を%抑制率としてProbit変換を行い,回帰計算を行ったところ,それぞれは平行な直線に回帰し(p<0.01),その切片に差をめた(P<0.01).

No. 症例群	回帰式	SE	r	t	df	p
1. N. R. Sec	y=1.520-0.237x	±0.056	-0.7800	5.978	23	<0.01
2. N. R. VIP	y=1.294-0.315x	±0.045	-0.9012	9.971	23	<0.01
3. N. G. Sec	y=1.525-0.237x	±0.058	-0.7689	5.768	23	<0.01
4. N. G. VIP	y=1.190-0.334x	±0.073	-0.8011	6.419	23	<0.01
5. A. R. Sec	y=1.416-0.243x	±0.065	-0.7790	5.272	18	<0.01
6. A. R. VIP	y=1.252-0.389x	±0.112	-0.7582	4.934	18	<0.01
7. A. G. Sec	y=1.113-0.229x	±0.108	-0.5783	3.008	18	<0.01
8. A. G. VIP	y=1.115-0.397x	±0.088	-0.8337	6.405	18	<0.01

y: % probit 変換 x: 濃度 log(2) 変換

N: 正常群 A: 食道アカラシアモデル群 R: LES 静止内圧 G: ガストリン刺激時圧

表4 LESP の50%抑制点における各群の濃度の比較

No. 症例群	50%抑制点における x 値
1. N. R. Sec	85 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
2. N. R. VIP	17 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
3. N. G. Sec	85 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
4. N. G. VIP	12 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
5. A. R. Sec	57 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
6. A. R. VIP	9 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
7. A. G. Sec	29 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$
8. A. G. VIP	7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$

では, Auerbach 神経叢は著明に変性し, VIP 神経細胞をほとんど認めなかった (写真5).

考 察

胃から食道への逆流を防止している噴門括約機構は下部食道括約筋 LES, Willis 胃斜走筋線維, 横隔膜右内脚, 横膈食道膜, 食道胃接合部粘膜皺襞, His 角, 胃泡の圧迫および腹部食道分節により形成されるが²⁰⁾, その構成因子のうち LES が逆流防止に最も重要な役割を演じており, His 角, 食道胃接合部皺襞がこれに準じていると考えられている. 岡崎³¹⁾は, 雑種成犬で逆流防止機構構成因子を個別的に破壊して食道胃接合部の静止内圧を測定し, LES, ついで Willis 胃斜走筋が食道胃接合部高圧帯の形成に重要であると述べている. LES は食道の末端 2~3 cm にあり¹⁹⁾, 一部の動物では他の部分より肥厚した筋層を示し, 特に輪状筋の

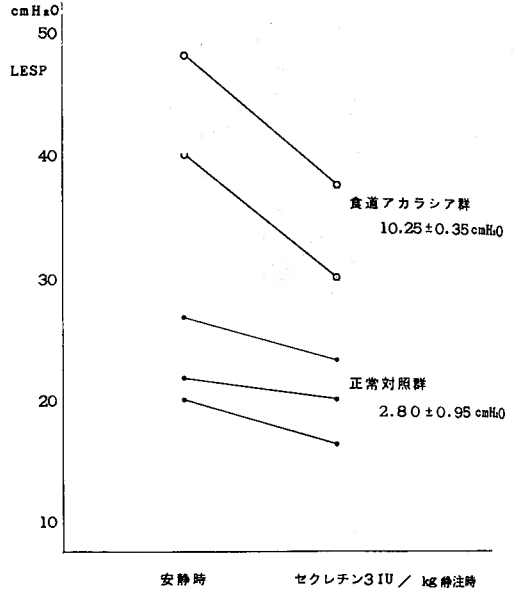


図7 食道アカラシア患者及び対照成人男子のLESPに対するセクレチンの効果
食道アカラシア患者, 対照成人ともセクレチン3 IU/kgの静注によりLESPの低下を認め ($p < 0.05$), その低下は食道アカラシア患者において著明 ($p < 0.01$) であった.

発達には他の食道体部とは構造的な違いを示しているが⁴⁵⁾, ヒトでは食道体部の筋組織とほとんど解剖学的に差異は認められない. このLESは各種の神経性および体液性因子によって影響をうけている¹⁹⁾. Giles

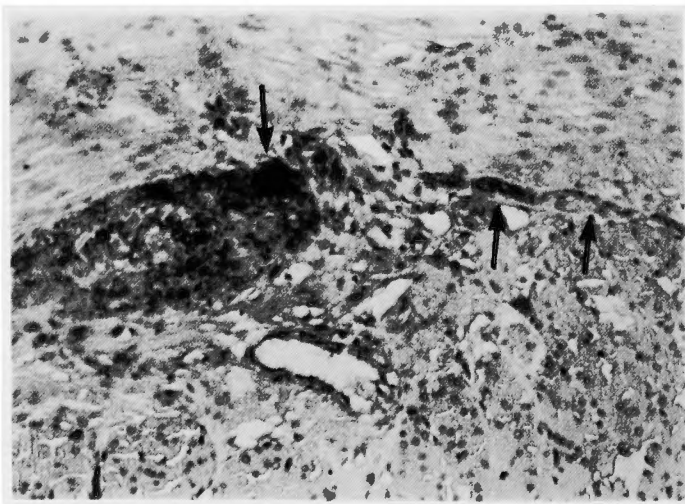


写真1

×100

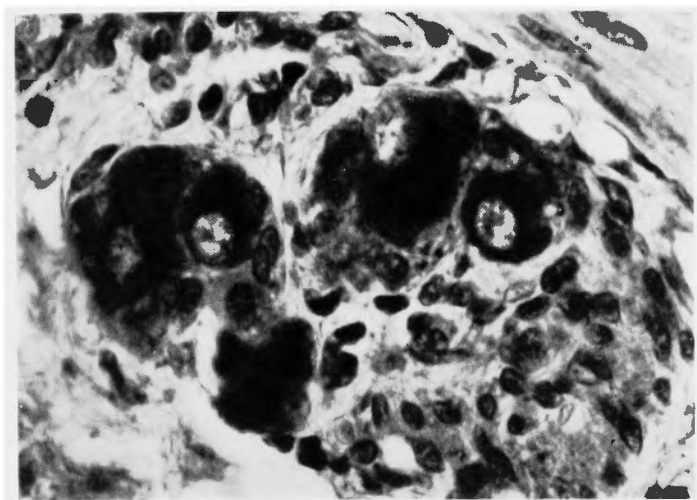


写真 2 ×400

写真 1, 2 正常犬
Auerbach 神経叢および LES 筋層内に抗 VIP 抗体に反応する神経細胞 (↓) および神経線維 (↑) を認める。

ら¹²⁾のヒトにおけるガストリン負荷による LES 圧上昇作用の報告以来、各種消化管ホルモンと食道運動機能との関係が注目されてきた^{14,48)}。Cohen ら⁸⁾はヒトにおけるガストリン I の静注による下部食道括約筋圧 (LESP) 上昇作用を dose-response curve の点から報告している。Lipshutz ら²⁹⁾はコウモリネズミにおいて抗血清を用いて循環しているガストリンを中和したと

ころ、LESP は90%低下したと報告した。Vizi らはガストリンによるモルモット回腸縦走筋のアセチルコリン放出および腸の機械的反応に対する作用はテトロドトキシンで抑制されたが、hexamethonium によって影響されず、さらに交感神経緊張によって抑制された点から、ガストリンは Auerbach 神経叢の non-nicotinic receptor に働き、アセチルコリンを放出して

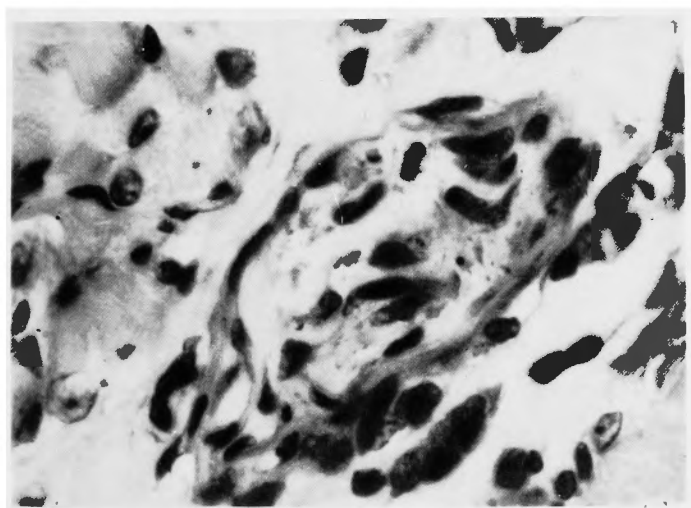


写真 3 食道アカラシアモデル犬 ×400
Auerbach 神経叢は破壊され、円形細胞浸潤、コラーゲン線維の増殖を認め、VIP 神経は著明に減少している。

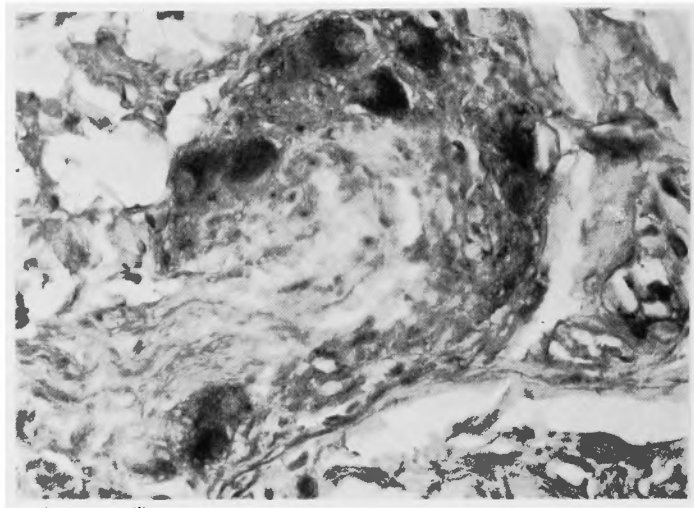


写真4 正常ヒト ×320
Auerbach 神経叢にVIP 神経細胞および神経線維を認める。

作用するものと考えた。Rattan ら³⁰⁾は LES に対するガストリンの作用はコウモリネズミの生体でアトロピンにもテトロドトキシンにも拮抗されない点から、ガストリンの作用は神経を介するものでなく、ガストリンの LES のレセプターに対する直接作用であろうと報告しており、最近の知見ではガストリンの作用は LES への直接作用によると考えるものが多い¹³⁾。また、LES は各種の因子に対して食道の他の部分より過敏性を示す。Hollis ら¹⁷⁾らはペンタガストリンによる

LESP の上昇作用は上方の食道体部に比べて有意に強く、 $4.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ にて最大反応を示したと報告している。今回の実験では外因性ガストリンとしてはテトラガストリンを使用し、その $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ を one shot で静注した。ガストリン受容体に関して著者はヒトガストリン I~34 (Buchs) に対するウサギ抗体 (1:256) を用いてガストリン染色を試みたが、ガストリンは染色されなかった。セクレチンに対して Cohen ら⁸⁾は、セクレチン $1.0 \text{ U}/\text{kg}$ を静脈内投与するか、 0.1 N

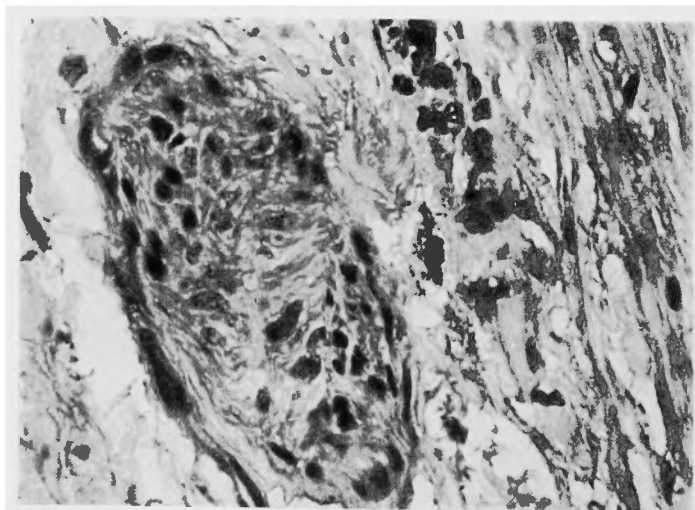


写真5 食道アカラシア患者 ×320
Auerbach 神経叢は変性し、神経細胞はほとんど認めず、神経線維束を認める。
VIP 神経はほとんど認めない。

HClによる十二指腸内酸性化によってセクレチンが内因性に放出された時、LES 静止圧の基礎レベルの変化は認めなかったが、セクレチンの外因性投与および内因性放出はガストリン I の静注に対する LES の peak response を著しく低下せしめ、dose-response 曲線を右方へ偏位させたと報告している。教室の山時⁴³⁾によるとセクレチン 5 CHRU/kg/5 min 単独静注では下部食道内圧に著変を認めなかったが、セクレチン静注後にテトラガストリンを静注するとテトラガストリンの内圧上昇は有意の差をもって抑制されたと報告している。今回の実験では雑種成犬にセクレチン 50 IU を one shot 静注したところ、単独で LESP の低下を認め、その作用は注射後60秒より11分30秒まで続いた。VIP は、Said, Mutt らによりブタ小腸より抽出され⁴⁰⁾、28個のアミノ酸よりなり²⁹⁾、構造・作用の面でセクレチン、Glucagon などに類似している。VIP は、血管拡張作用、心拍出量増加、glycogenolysis, lypolysis, 胃液分泌阻害作用、インスリン、膵液、腸液などの分泌作用などをもっているが、とくにその平滑筋に対する弛緩作用は強力である。また消化管粘膜、筋層³⁶⁾だけでなく、肺⁵¹⁾、泌尿生殖器²⁴⁾にも分布している他、somatostatin, substance p, neurotensin, cholecystokinin, enkephalin などと同様に³⁵⁾、脳神経組織²³⁾にも分布しており、また末梢神経終末^{43,44)}にも存在することから、neurotransmitter としての役割も示唆されている。Alumets ら²⁾はラジオイムノアッセイによってネコの VIP の分布を検索し、LES, 幽門などの括約筋部に高濃度の VIP が分布しており、VIP が括約筋の弛緩作用に関与している可能性のあることを報告している。Uddman⁵²⁾は、ネコ、ブタ、ヒトについて下部食道の平滑筋内の Auerbach 神経叢内に VIP に免疫学的に反応する神経細胞および神経線維を認め、またネコの食道組織について VIP が dose-dependent にカルバミルコリンによる筋収縮に対して弛緩作用を示し、しかも食道胃接合部に近い食道下部の筋肉の方が遠位のものより VIP に対し強い作用をもっていると述べている。VIP の LESP に対する作用については Rattan, Said ら³⁹⁾がコウモリネズミで VIP の LESP 抑制効果を報告している。Domschke ら¹³⁾は VIP 1.6~3.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ の静注はヒトの LES 基礎圧を低下させなかったが、ペンタガストリン 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の静注に対する LES の反応を20~55%抑制したと報告している。Siegel ら⁴⁷⁾によるヒヒについての実験では、LES の静止内圧を低下せしめる力価は VIP : セク

レチン : グルカゴンで32 : 2 : 1であり、ペンタガストリンによって刺激された LESP の抑制力価は64 : 2 : 1であり、さらに VIP の LES に対する効果はテトロドキシンによって抑制されず、LES に対する直接作用にもとづいていると述べている。今回の実験ではセクレチンをコントロールとして VIP を 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ より16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ までの各量で点滴静注し、静止内圧および、テトラガストリンの LESP 上昇作用に対する効果を dose-response curve を作成して比較した。LESP の 50%抑制点を求めてその濃度を比較したところ、VIP はセクレチンに対して静止内圧で5倍、テトラガストリン刺激圧では7倍の抑制効果を示した。また PAP 法^{44,49)}による VIP 神経の検索では、正常犬およびヒトの LES の Auerbach 神経叢内に VIP 神経細胞および VIP 神経線維を認めたことより、VIP の作用は筋層への直接作用と考えられ、また VIP が迷走神経の抑制神経の伝達物質としての働きのあることが示唆された。食道アカラシアは食道拡張や運動失調を呈する食道の機能異常であるが、Willis が1674年に最初の報告をして以来数々の議論がされてきた疾患である。Mikulicz²⁷⁾は1882年、食道鏡所見から原因は噴門部の痙攣にあるとして、噴門痙攣症と命名した。Kramer と Ingelfinger²¹⁾は1949年、本症において食道内圧曲線を記録し、噴門部が無弛緩状態にあることを初めて証明した。それ以後急速に進歩した食道内圧による研究により本症の病態はしだいに明らかにされてきた。本邦では、食道アカラシア取り扱い規約⁵⁰⁾が定められ、本症を下部噴門部の弛緩不全による食物の通過障害や食道の異常拡張などがみられる機能的疾患と定義している。本症の食道内圧検査では、正常例にみられる食道胃接合部における盆状の陰性波がまったく認められず、中・下部食道に同期性陽性波のみが認められる(図8)。Cohen ら⁹⁾は食道アカラシア患者および正常例に対してガストリンの種々の量を静注負荷し、LES 圧の変化を比較・検討し、食道アカラシア患者では LES 圧の peak response を示すガストリン負荷量は 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったのに反して、正常例では 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と高く、また dose-response 曲線を作成してみると、食道アカラシア患者のそれは正常例に比して左方へ偏位していた点から、本症患者はガストリンに対して過敏性を示すことを報告した。教室の山時⁴³⁾によると、食道アカラシアモデル犬の食道胃接合部静止内圧は正常犬に比して有意に高値であり、メコリール 5 mg 筋注後やテトラガストリン 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 静注後に正常犬に比して有意

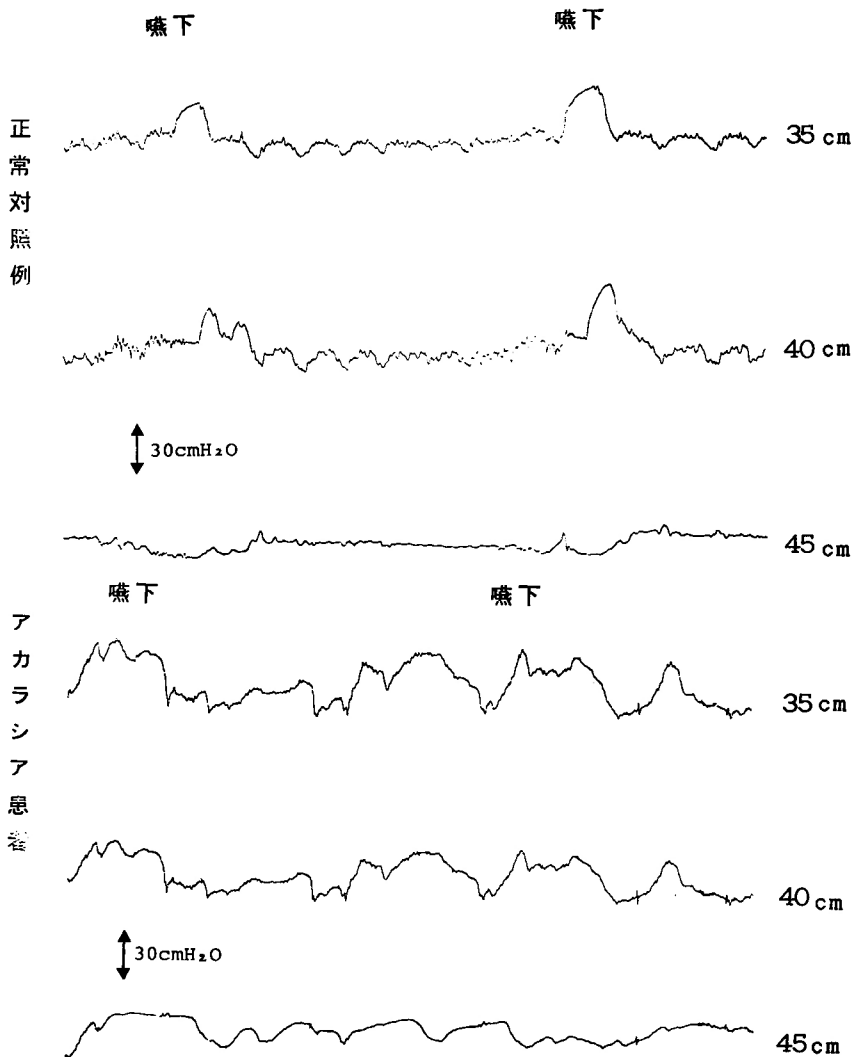


図8 正常人及び食道アカラシア患者における食道内圧
 正常人では嚥下により second wave に伴って LES の弛緩を認めるが、食道アカラシア患者では LES の弛緩を認めず、上方の食道に同期性律動波を認める。

に高い圧上昇を示し、また食道アカラシア犬ではテトラガストリン各投与量に対する内圧上昇の dose-response curve は左方へ偏位していたと述べている。さらにあらかじめセクレチン 5 CHRU/kg/5 min を静注したのち、テトラガストリン 5 μg/kg を静注した際、ガストリンの LESP 上昇作用の抑制率は食道アカラシア犬と正常犬との間に有意の差を認めなかったと報告している。橋本ら¹⁰⁾は3例の食道アカラシア例に対して 2 U/kg のセクレチンを静注し LESP におよぼす影響を検討したところ、食道アカラシア症例、

正常対照例ともセクレチンの静注後直ちに LESP の低下がみられたが、食道アカラシア例における % response は正常対照例に比べて大きく、さらに両群の間に血漿ガストリン値にほとんど差を認めなかったことから LESP の低下はセクレチンの LES に対する直接作用に差異があるためであると述べている。今回の実験でアカラシアモデルとして Deloyer の方法¹⁰⁾によるフェノール注入による壁内神経叢破壊犬を用いたが、この方法は両側迷走神経切離による方法よりもメコリール反応、ガストリンに対する反応などの点から、ヒ

トの食道アカラシアにより近似した動物を作成しようと思われる。今回作成した食道アカラシアモデル犬でも食道胃接合部静止内圧は 32.54 ± 3.76 (正常群 27.98 ± 2.68) cm H₂O, ガストリン刺激圧は 64.32 ± 4.33 (正常群 48.35 ± 5.28) cm H₂O と有意に ($p < 0.05$) 著明な変化がみられ, ガストリンに対する過敏反応をみとめた。正常犬および食道アカラシア犬に対するセクレチンおよび VIP の投与では, セクレチンの単独投与では正常群, 食道アカラシア群間に有意の差は認めなかったが, テトラガストリンによる LESP 上昇作用に対しては食道アカラシア犬群で有意に ($P < 0.01$) 強い抑制効果を認めた。VIP に関しては, 食道アカラシア群において, 静止圧, テトラガストリン刺激による LESP 上昇ともにより過敏な抑制効果を認めた ($P < 0.1$)。また成人男子 3 名と男子食道アカラシア患者 2 名に対するセクレチン 3 U/kg の単独投与では, 両群とも有意に LESP が低下し ($P < 0.05$), しかも食道アカラシア患者でより強い LESP の低下が認められた ($p < 0.01$)。以上より食道アカラシア患者は外因性セクレチンおよび VIP に対しても強い過敏反応を示すと考えられる。食道アカラシアモデル犬および食道アカラシア患者の LES はメコリールに対し過敏な反応を示すが, Kramer ら²³はこの特異的なメコリールに対する hypersensitivity を Cannon's law of denervation⁶⁾ により説明している。すなわち, 遠心性自律神経経路においてその構成単位が破壊されると除神経された終末器官は化学伝達物質に対して一時的に過敏性を獲得し, 天然の伝達物質以外の化学的刺激性物質に対してもこの過敏性を生ずる。食道アカラシア患者においては節後性副交感神経性 Auerbach 神経叢に変性があるためこの Cannon の除神経の法則にもとづく反応が発現するというものである。しかし, 壁内神経細胞は単に副交感神経の節後 neuron だけでなく, 交感神経線維の synaptic termination も証明され, また Burnstock ら⁵⁾は壁内神経の中に non adrenergic inhibitory neuron の存在を証明した。免疫組織学的検索による食道アカラシアモデル犬および食道アカラシア患者の組織では Auerbach 神経叢が破壊, 変性しており, VIP に免疫活性のある神経は著明に減少していた。したがって VIP を神経伝達物質とする inhibitory nerve が除神経状態にあり, VIP に対する過敏反応が除神経の法則によって発現すると考えられる。Aggestrup¹⁾ は 5 人の食道アカラシア患者の LES に免疫組織化学的検討を加えて VIP 神経の著明な減

少を認め, 一方組織 VIP を定量し, VIP 濃度の減少を証明し, 食道アカラシア患者の LES 弛緩不全には, 抑制神経としての VIP 神経の減少が関与していると結論している。Cohen ら⁸⁾は内因性ガストリン作用の抑制によって LESP を低下せしめることができるならば, 食道アカラシアを内科的に治療することも可能であると述べている。Jennewein ら¹⁶⁾は食道アカラシア患者 10 名に引き抜き法で食道胃内圧を測定してみると, LES 静止圧は対照の正常人の 19 ± 2.5 mmHg に比して 35 ± 3.9 mmHg と高値を示したが, グルカゴン 60 μ g/kg 静注後には 17.23 ± 2.3 mmHg に低下し, この効果は 15 分間持続することを認めた。Siewert ら⁴⁶⁾もグルカゴン静注により食道アカラシア患者の内圧が低下し, その間患者は苦痛なく食事をとることができたと報告している。著者は今回セクレチン 3 UI/kg を食道アカラシア患者に静注したところ著明な LESP の低下を認め, さらにイヌの実験により, VIP の LESP へ及ぼす抑制効果はセクレチンの 5 倍にも及ぶことを認めた。したがって VIP が食道アカラシアに対する有効な治療薬となる可能性もあると考えられる。また類縁疾患である Diffuse esophageal spasms, Vigorous achalasia などとの鑑別診断にも VIP を使用できる可能性があると考えられる。

ま と め

噴門括約機構に対する VIP の影響を調べる目的で, 正常犬および食道アカラシアモデル犬についてセクレチンをコントロールとして食道内圧検査を行った。また正常人, 食道アカラシア患者に内圧検査をおこない, セクレチンの下部食道括約筋 LES に対する作用を検討した。さらに免疫組織学的に正常犬, 正常人, 食道アカラシアモデル犬および食道アカラシア患者の LES における VIP の局在を検索し, 以下の結論を得た。

- 1) VIP はセクレチンに比して 5 倍の正常犬 LES に対する弛緩作用をしめした ($P < 0.01$)。
- 2) VIP のガストリンによる LES 収縮に対する抑制効果はセクレチンの 7 倍であった ($P < 0.01$)。
- 3) 食道アカラシアモデル犬では正常犬に比して VIP による LES 弛緩作用は正常犬の約 2 倍であった ($P < 0.1$)。またテトラガストリンによる LES 収縮に対する抑制効果は正常犬の約 2 倍であった ($P < 0.1$)。食道アカラシアモデル犬は外因性 VIP に対する過敏反応を示す傾向にあった。
- 4) 食道アカラシア患者は正常人に比して外因性セク

レチンに対して、より過敏な LES 弛緩作用を示した ($P < 0.01$).

5) 免疫組織学的検索で、LES、特に Auerbach 神経叢に VIP 抗体に反応する神経細胞および神経線維を認め、VIP が LES 収縮に対する抑制神経の neurotransmitter として直接作用している可能性が示唆された。食道アカラシア犬および食道アカラシア患者の組織では Auerbach 神経叢の破壊、変性、VIP 神経の著明な減少を認めた。

以上の成績より、食道アカラシアの病因として Auerbach 神経叢内の神経細胞の変性が考えられ、VIP 神経の減少が食道アカラシアの LES の弛緩不全に影響している可能性が考えられた。また VIP が食道アカラシアに対する診断薬あるいは治療薬として利用される可能性のあることが考えられた。

本論文の要旨は第28回日本胸外科学会関西地方会 (1985年6月、静岡)、第26回日本消化器外科学会総会 (1985年7月、札幌) および第86回日本外科学会総会 (1986年4月、東京) において発表した。

稿を終わるに臨み御指導、御校閲を賜った石上浩一教授に深甚なる謝意を表するとともに、今回の実験に御協力いただいた本間喜一博士はじめ教室諸兄ならびに免疫組織化学の面で御懇篤な御指導を賜った病理学第一講座内野文弥教授、横田忠明博士他教室の皆様へ深く感謝いたします。また本研究の一部は昭和60年度文部省科学研究費補助金奨励研究 A (課題番号 No. 60771027) によったことを付記する。

参 考 文 献

- 1) Agges S, Uddman R: Lack of vasoactive intestinal polypeptide nerves in esophageal achalasia. *Gastroenterology* **84**: 924-927, 1983.
- 2) Alumets J, Schahalizky O, et al: A rich VIP nerve supply in characteristic of sphincters. *Nature* **280**: 155-156, 1979.
- 3) Arimori M, et al: Electrical activity of the canine esophagus and gastroesophageal sphincter: Its relation to intraluminal pressure and movement of material. *Digest Dis* **15**: 191-208, 1967.
- 4) Bryant M G, Polak J M: Possible dual role for vasoactive intestinal polypeptide as gastrointestinal hormone and neurotransmitter substance. *Lancet* **8**: 991-993, 1976.
- 5) Burnstock G, Campbell G, et al: The inhibitory innervation of the taenia of the guinea pig caecum. *J Physiol* **182**: 504-526, 1966.
- 6) Cannon W B: A law of denervation. *Am J Med Sci* **198**: 737-750, 1939.
- 7) Christensen J: Pharmacological identification of lower esophageal sphincter. *J Clin Invest* **49**: 681-691, 1970.
- 8) Cohen S, Lipshutz W: Hormonal regulation of human LES. *J Clin Invest* **50**: 449-454, 1971.
- 9) Cohen S, Lipshutz W, et al: Role of gastrin supersensitivity in the pathogenesis of lower esophageal sphincter hypertension in achalasia. *J Clin Invest* **50**: 1241-1247, 1971.
- 10) Deloyer L, Cordier R, et al: A new approach to the physiology of so-called cardiospasm. Experimental production of cardiospasm in cats after destruction of Auerbach's plexus. *Ann Surg* **146**: 167-176, 1957.
- 11) Domschke W, Lux G, et al: Effect of vasoactive intestinal polypeptide on resting and pentagastrin-stimulated lower esophageal sphincter pressure. *Gastroenterology* **75**: 9-12, 1978.
- 12) Gikes G R, Mason M C: Action of gastrin on the LES. *Gut* **10**: 730-734, 1969.
- 13) Goyal RK, Rattan S: Neurohormonal, hormonal and drug receptors for the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* **74**: 598-619, 1978.
- 14) Goyal RK, Rattan S: Role of gastrointestinal hormones in esophageal function. *Medical and Surgical Problems of the Esophagus*: 18-21, 1981.
- 15) 橋本 創, 宮田正彦, 他: 食道アカラシア症例における下部食道括約筋におよぼすセクレチンの影響. *消化管ホルモン IV*: 168-175, 医学図書出版, 1984.
- 16) Jennewein H M, Waldecke F, et al: The interaction of glucagon and pentagastrin on the lower esophageal sphincter in man and dog. *Gut* **14**: 861-864, 1973.
- 17) Hollis J B, Levine S M, et al: Differential sensitivity of the human esophagus to pentagastrin. *Am J Physiol* **222**: 870-874, 1972.
- 18) Ingelfinger F J, Sanchez G O, et al: Motor mechanisms of esophagus, particularly of its distal portion. *Gastroenterology* **125**: 321-332, 1953.
- 19) 石上浩一: 食道胃接合部と外科手術. *日本医事新報* **2562**: 9-14, 1973.
- 20) 石上浩一, 三時 脩, 他: 消化管ホルモンと食道アカラシア. *消化器外科* **3**: 2071-2082, 1980.
- 21) Kramer P, Ingelfinger F J: Motility of the human esophagus in controlled subjects and in patients with esophageal disorders, Cardiospasm; A generalized disorder of esophageal motility. *Am J Med* **7**: 174-179, 1949.
- 22) Kramer P, Ingelfinger F J: Esophageal sensitivity to mecholyl in cardiospasm. *Gastroenterology* **19**: 242-253, 1951.
- 23) Larsson L I, Edvinsson L, et al: Immunohistochemical localization of a vasodilatory polypeptide in cerebrovascular nerves. *Brain Research* **113**: 400-404, 1976.
- 24) Larsson L I, Fahrkrug J, et al: Vasoactive

- intestinal polypeptide occurs in nerves of the female genitourinary tract. *Science* **197**: 1374-1375, 1977.
- 25) Lipshutz W, Cohen S: Physiological determinant of lower esophageal sphincter function. *Gastroenterology* **61**: 16-24, 1971.
- 26) Lipshutz W, Hughes W: The genesis of LESP; Its identification through the use of gastrin antiserum. *J Clin Invest* **51**: 522-529, 1972.
- 27) von Mikulicz J: Ueber Gastroskopie und Oesophagoskopie. *Mitt. Vereins Aerzte Nieder-Oest Wien* **8**: 23-28, 1882.
- 28) 森 茂郎, 毛利 昇: PAP 法の技術. *病理と臨床* **1**: 1079-1088, 1983.
- 29) Mutt V, Said SI: Structure of the porcine vasoactive intestinal octacosapeptide. *Eur J Biochem* **21**: 581-589, 1974.
- 30) Norberg K A: The sympathetic adrenergic neuron and certain adrenergic mechanism, a histochemical study. MD Thesis Stockholm, 1965.
- 31) Okazaki Y: Experimental and clinical studies on the operative treatment of sliding esophageal hiatal hernia. *Arch Jpn Chir* **49**: 3-36, 1980.
- 32) 岡本英三, 朱 明義: 食道アカラシアの成因. *消化器外科セミナー* **7**: 193-211, へるす出版, 1982.
- 33) Creamen B, Olsen M, et al: The esophageal sphincter in achalasia of the cardia (cardiospasm). *Gastroenterology* **33**: 293-301, 1957.
- 34) Pappas GO: Ultrastructural basic of synaptic transmission. *Nature* **256**: 324-325, 1975.
- 35) Pearse A G E: Peptides in brain and intestine. *Nature* **262**: 92-93, 1976.
- 36) Polak JM, Pearse AGE, et al: Cellular localization of vasoactive intestinal peptide in mammalian and avian gastrointestinal tract. *Gut* **15**: 720-724, 1974.
- 37) Pope CE: A dynamic test of sphincter strength: Its application to the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* **52**: 779-787, 1967.
- 38) Rattan S, Coln D, et al: The mechanism of action of gastrin on the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* **70**: 828-831, 1976.
- 39) Rattan S, Said S I, et al: Effect of vasoactive intestinal polypeptide on the lower esophageal sphincter pressure (LESP). *Proc Soc Exp Biol Med* **155**: 40-43, 1977.
- 40) Said SI, Mutt V: Polypeptide with broad biological activity: Isolation from small intestine. *Science* **169**: 1217-1218, 1970.
- 41) Said SI, Rosenberg RN: Vasoactive intestinal polypeptide: Abundant immunoreactivity in neural cell lines and normal nervous tissue. *Science* **192**: 907-908, 1976.
- 42) 佐久間昭: 効力比検定: 173-190, 生物検定法, 東京大学出版会 1964.
- 43) Santoki O: Role of gastrin and other gastrointestinal hormones in the pathophysiology of achalasia of the esophagus. *Arch Jpn Clin* **46**: 88-112, 1977.
- 44) 佐藤雄一, 他: 酵素抗体法 (PAP 法) の検討. *臨床検査* **25**: 449-453, 1981.
- 45) Seeling L L, Goyal R K: Morphological evaluation of opossum lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* **75**: 51-58, 1978.
- 46) Siewert R, Früh E: Senkung des Druckes im unteren Ösophagus sphinkter bei der Achalasia durch Glucagon. *Deutsch Med Wschr* **98**: 2045-2046, 1973.
- 47) Siegel S R, Brown F C, et al: Effect of vasoactive intestinal polypeptide on lower esophageal sphincter in awake baboons, comparison with glucagon and secretin. *Dig Dis Sci* **24**: 345-349, 1979.
- 48) Snape W J, Cohen S: Hormonal control of esophageal function. *Arch Intern Med* **136**: 538-542, 1976.
- 49) Sternberger LA: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* **18**: 315-333, 1970.
- 50) 食道疾患研究会編: 食道アカラシア取扱い規約, 金原出版, 1974.
- 51) Uddman R, Alumets J: Peptidergic (VIP) innervation of the esophagus. *Gastroenterology* **75**: 5-8, 1978.
- 52) Vizi S E, Bertaccini G, et al: Evidence that acetylcholine released by gastrin and related polypeptides contributes to their effect on gastrointestinal motility. *Gastroenterology* **64**: 268-277, 1973.