

胃冷凍法に関する実験的研究

特に胃粘膜の組織化学的研究並びに pH indicator method による
胃酸分泌抑制効果の検討について

岩手医科大学第2外科学教室（指導：金谷春之教授）

相 澤 龍

〔原稿受付：昭和44年5月31日〕

Experimental Studies with Gastric Freezing

—Histochemical examination of gastric mucosa and effect
of gastric freezing on the gastric secretory changes by pH indicator method—

by

RYU AISAWA

The 2nd Department of Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University
(Director : Professor HARUYUKI KANAYA)

The gastric freezing for 45~60 minutes was performed on 98 dogs according to the technique described by Wangenstein. But there was a temperature gradient of about 10~15°C between the maximum and minimum gastric serosal temperature when the Wangenstein's balloon was employed, while by the double balloon originated by our laboratory for the purpose of even-freezing of the fundic glandular region, it was reduced to about 4°C. The double balloon here was made setting a smaller balloon with manifold infusion device into the ordinary balloon. In a laparotomized state, the gastric serosal temperature was recorded every 5 minutes on each dog during the freezing procedure. The following enzymes were studied histochemically : succinate dehydrogenase, (SDH-ase) acid phosphatase (AcP-ase), and PAS reaction. Congo red-carbowax on the gastric mucosa was applied to pH indicator method.

The results were obtained as follows :

- 1) SDH-ase activity decreased continuously and no mucosal injury occurred, under a condition of that the gastric serosal temperature was 1-5°C
- 2) As for SDH-ase activity of the gastric fundic glandular region, focal changes were associated with the ordinary balloon while diffuse changes were associated with the double balloon, lasting 6 months after freezing.
- 3) Atrophy of the gastric mucosa due to gastric freezing affected SDH-ase activity, as seen in chronic gastritis. On the other hand, on post-freezing ulceration, SDH-ase activity showed no such tendency as what was consequent on associated gastritis.

4) AcP-ase activity recovered to the extent of the control about one month after gastric freezing by either balloon, but the activity in some cases, whom the double balloons were used, showed reduction 3 months after gastric freezing.

5) Temporary increase of PAS reaction was seen immediately after gastric freezing, showing a tendency to decrease to a level of the control in 3 months in cases whom the ordinary balloons were employed and the tendency was recognizable in the neck of the gastric fundic glandular region of cases, whom the double balloons were inserted, even at the 6th month after gastric freezing.

6) Atrophic change of the gastric mucosa brought about the decrease in SDH-ase activity, AcP-ase activity and PAS reaction.

7) SDH-ase and AcP-ase activities and PAS reaction in the intestinal metaplasia were intensified.

8) The effect of the vagus block estimated by pH indicator method on the dog, the ordinary balloon was applied, had similarity to that produced by the lateral block of the vagus, while on cases whom the double balloons were applied it was similar to that the bilateral block of the vagus.

9) Interr Relationship between SDH-ase and AcP-ase activities, PAS reaction and pH indicator method and the gastric acid secretion (hydrochloric acid, pepsin and mucoprotein) was shown obviously.

目 次

I. 緒 言

II. 研究方法

1. 実験材料並びに冷凍方法
2. 組織化学的研究方法
3. pH indicator method

III. 実験成績

1. 組織化学的成績

- 1) コハク酸脱水素酵素活性
- 2) 酸フォスファターゼ活性
- 3) PAS反応
- 4) 各種薬剤による酵素活性

2. pH indicator methodによる胃冷凍法の胃酸分泌

抑制効果の検討

- 1) Congo red-carbowax method
- 2) Neutral red method
- 3) 迷走神経切断術との比較

IV. 総括並びに考察

1. 胃粘膜の組織化学
2. 胃冷凍法による胃粘膜の組織化学的变化
3. 二重型バルーン法による胃冷凍と標準型バルーン法による胃冷凍における組織化学的变化
4. 胃冷凍後の胃液分泌と組織化学的变化
5. 胃冷凍法の迷走神経遮断効果

V. 結 語

I. 緒 言

胃十二指腸潰瘍の外科的治療法(胃切除術)にかわり得る方法として Wangenstein¹⁾²⁾らが“gastric freezing”を“physiological gastrectomy”として報告して以来、実験的、臨床的に多くの追試報告があるが、その治療効果および合併症などについては尚多くの論議³⁻²⁰⁾がある。すなわち減酸効果の不確実性、短期間後における胃酸の再上昇および潰瘍の再発、胃冷凍に伴う急性潰瘍の形成、胃穿孔、大量出血などの胃壁の

局所損傷、更には迷走神経並びにガストリン分泌機構への影響などが諸家により提出されているが、いまだに不明の点が多い。これらの諸問題は胃壁の冷凍条件に密接に関連していると考えるが、それらの発生要因、機序に関しては今日尚不明の点が多く、それらのうち特に、潰瘍治療に関する至適温度条件も諸家により異なり、それらの考察にも理論的な根拠に乏しく、未だ一定の見解には達していない。

私共は前述の諸問題を解明するためには、胃冷凍法による持続的な減酸効果及び胃壁損傷を発生しない適

正な温度条件の決定と、その条件下における平等胃冷凍法などについて検討することが重要と考え、それらの成績に関しては、すでに報告してきた²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁵⁾³¹⁾。教室の北²⁴⁾は壁細胞数の推移より冷凍温度限界を漿膜温 $1\sim 3^{\circ}\text{C}$ とし、教室の村井²⁵⁾も胃液成分の推移より、従来の標準型バルーンを使用した群と比較して、私共の考案した二重型バルーンを使用した群の方が減酸効果の持続する事を報告し、そのうち、北の示した形態学的にみた至適温度条件が胃液分泌の機能的な面とも密接に関係し、著しく減酸することを実証した。

そこで私は、北、村井の報告を一層明確にするために、胃冷凍後の犬胃粘膜について組織化学的方法により各冷凍温度条件並びに冷凍方法を比較検討し、更に pH indicator method によって冷凍後の胃酸分泌抑制効果を迷走神経切断群と比較検討し、胃壁の損傷なく持続的な減酸効果を期待し得る温度条件の確認と二重型バルーン使用による胃底腺領域の平等冷凍法について興味ある知見を得たので報告する。

II. 研究方法

1. 実験材料並びに冷凍方法

実験動物は体重 $10\sim 20\text{kg}$ の雌雄の雑種成犬98頭を用い、それらのうち対照実験として組織化学的方法に12頭、pH indicator method に4頭、迷走神経切断法に4頭を使用した。本実験には後述する標準型バルーン、二重型バルーンを各33頭、45頭にて用いて、冷凍直後より1年後まで経時的に検討した。なお実験犬はすべて前日より絶食せしめた。

冷却器はシグマポンプを利用した閉鎖式回路の自作器(図1)を用い、内径3および8mmのポリエチレン二重管の先端にゴム製の胃型バルーンを装置し、冷却槽はドライアイスで冷却し、 $70\sim 90\%$ のエタノールを

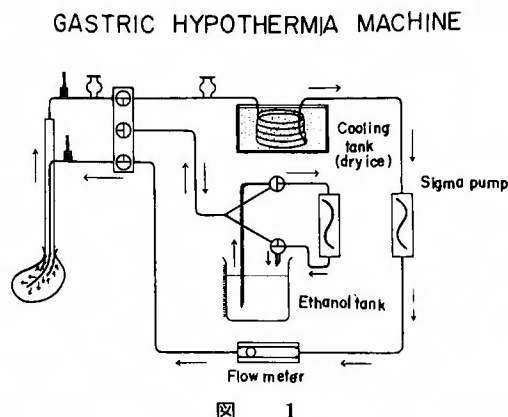


図 1

灌流させた。従来の標準型バルーンの他に胃壁の局所損傷を防ぎ胃底腺領域を平等に冷凍する目的で、ポリエチレン製の楕円形小バルーンを内蔵する二重型バルーン(図2)を考案した。外バルーンはラテックス製品、内バルーンは伸展性の少ないポリエチレン製で径約 0.5mm の多数の小孔を先端部に密に設けた。内バルーン中の注入管には6個の側孔を、注出管には6~7個の側孔を設け、注入管先端はスポンジ球で閉鎖し jet force を防ぎ、又挿入時の胃壁損傷を避けた。Barbiturate $25\sim 30\text{mg/kg}$ 静注後、閉鎖循環式気管内麻酔(エーテル・酸素)の下に開腹し胃ゾンデにより可及的速やかに胃内空気および内容物を吸引後胃型バルーンを挿入し、灌流液が充満する事を確認してから閉腹した。その後に胃壁温度測定のために前後の胃漿膜に互換性指示温度計 MODEL, MGA の検出端を標準型、二重型バルーン使用群共に6~10ヵ所縫合固定した。体温下降を防ぐために電気毛布にて全身を包んで灌流を開始した。

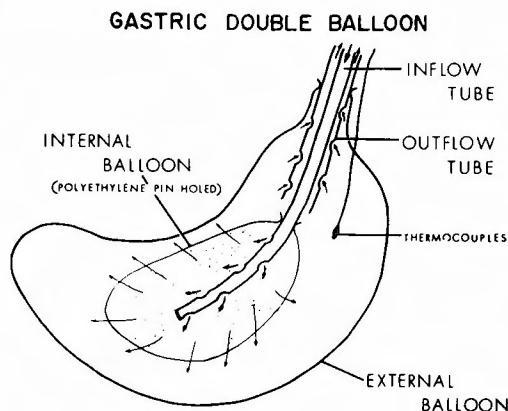


図 2

温度測定部位は胃底腺領域を主体とし杉村³⁶⁾の壁細胞分布(図3)中の 100% 区域と $80\sim 75\%$ 区域を主に選び、灌流中の最後の5~15分間の各部の温度を記録し後日胃切片採取時の指標として縫合糸を残した。

灌流条件は流量 $1000\sim 1800\text{ml/min}$ 、実施時間は45~60分、注入温 $-25\sim -20^{\circ}\text{C}$ 、注出温 $-7\sim -14^{\circ}\text{C}$ 、冷却槽 $-20\sim -30^{\circ}\text{C}$ 、バルーン容量は $600\sim 900\text{ml}$ とした。

胃壁温度は $10\sim 6^{\circ}\text{C}$ 、 $5\sim 1^{\circ}\text{C}$ および $0\sim -5^{\circ}\text{C}$ の3群とした。

2. 組織化学的研究方法

組織内酵素の研究方法には大別すれば、組織化学的

DISTRIBUTION OF THE PART MEASURED PARIETAL CELL ON TEMPERATURE NORMAL DOG(SUGIMURA) AND TAKEN TISSUE

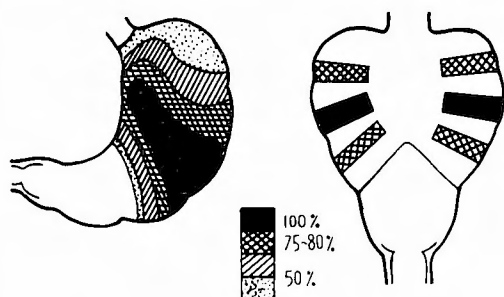


図 3

測定法、生化学的測定法およびアイソザイムの研究方法の三方法があり、それぞれ一長一短があるが、壁細胞の部位的分布の差およびその機能(酵素活性の強弱)を追求するためには、各種細胞の変化を追求出来る組織化学的測定法が有効であるので、本法により行なつた。特に固定時間、インキュベーションの時間、Schift現象、その他による再現性に関する制約および限界を²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾充分に考慮して酵素活性を追求した。

胃の機能面(胃液分泌)と結びついた組織化学的研究は少なく、向後追求されるべき重要な事項を含むが、三好³⁰⁾はコハク酸脱水素酵素(succinate dehydrogenase 以下SDH-aseと略す)活性、酸フォスファターゼ(acid phosphatase 以下AcP-ase)と略す)活性、DPN-diphosphoraseの三種類の酵素活性以外は胃液分泌機能を酵素活性と結びつけて観察するのに不相当とし、SDH-ase活性は壁細胞機能(胃酸分泌)と、AcP-ase活性は主細胞機能と関連性があると述べている。SDH-ase活性が壁細胞機能と密接な関係を有する事については、従来より多くの報告があり^{32)~34)}、又、AcP-ase活性についても主細胞に強い活性があると諸家^{42)~48)}により認められている。そこで私は壁細胞機能はSDH-ase活性で、主細胞機能はAcP-ase活性、又、粘液分泌細胞機能は従来より最も広く使用されてきたPAS反応で追求した。

組織採取部位は図3に示したが、採取した組織切片は酵素活性保持状態の不変性を得るために凍結切片をcryostat (South London Electrical Equipment Co. L. T.D.-SLEE製の“Pearse” Refrigerated Microtome)を用いて作製し、染色した。

1) SDH-ase 活性 次の三種類の tetrazolium 塩を使用した。NT [p,p'-diphenylen bis 2-(3,5-diphenyl)

tetrazolium chloride], BT [3,3'-dianisole bis 4,4'-(3,5-diphenyl) tetrazolium chloride], NBT [2,2'-di-p-nitrophenyl 3,3'-(3'-dimethoxy-4,4'-biphenylen) di-tetrazolium chloride]。

NT, BTは Rutenburg, Wolman et Seligman 氏改良法³⁹⁾にて、又、NBTは Nachlas, Wolkler et Seligman 氏法⁴⁰⁾にて検討したが、いずれの場合にても基質液にコハク酸を入れないものを対照とした。陽性部は各々紫青色、黒色、青色の formazan を作つた。酵素活性の判定基準は市川⁴¹⁾の報告を参考にした。

NT, BT: 新鮮組織片を末固定のままドライアイスで凍結し cryostat にて10 μ の厚さの凍結切片を作り直接カバーガラスに貼布し、37°C、2時間後次の基質液中に浸漬し、水洗の後に10%ホルマリン液で固定し、水洗後グリセリンにて封入し鏡検した。

基質液

0.2% NT (又はBT) 水溶液	10 ml
0.2M コハク酸ナトリウム水溶液	10 ml
pH 7.6, 0.2M 磷酸塩緩衝液	10 ml
0.33M 塩化カルシウム水溶液	0.2 ml
0.005M 硫酸マグネシウム水溶液	0.2 ml
0.6M 重炭酸ナトリウム水溶液	2.0 ml
0.01M 塩化アルミニウム水溶液	0.8 ml
蒸留水	6.8 ml

NBT: 新鮮凍結切片を cryostat にて作製し、37°C、30分間次の基質液中に浸漬し、生理食塩水で水洗後10%ホルマリンに10分間固定し、15%アルコールに5分間浸漬後グリセリン封入にて鏡検した。

基質液

pH 7.6, 0.2M 磷酸塩緩衝液	5 ml
0.2M コハク酸ナトリウム水溶液	5 ml
0.1% nitro-BT溶液	10 ml

2) AcP-ase 活性 主細胞機能(ペプシン分泌)を追求するために AcP-ase活性を用いたが、この証明法には金属塩法とアゾ色素法があり、この酸性域で作用するフォスファターゼの証明には研究者によつて成績に差がある³³⁾⁴⁶⁾。しかし一般には主細胞、壁細胞にこの酸素活性を認め、特に主細胞に強い事は諸家によつて認められている^{30)33)42)~48)}。私は金属塩法である Gomori 氏改良法⁴⁹⁾にて追求した。

新鮮凍結切片を cryostat にて作製し 3%ホルマリンに20分間固定後、次の基質液中に37°C、1時間浸漬し、流水水洗後稀多硫化アンモニウム液中2分間浸漬し、流水水洗後、1%エオジン溶液5分間後染色しグリセリ

ン封入にて鏡検した。なお、陽性部は暗黒褐色に着色した。

基質液

pH 5.0, 1/20M醋酸塩緩衝液	500 ml
硝酸鉛	50 ml
β グリセロ磷酸ナトリウム水溶液	50 ml

3) PAS反応 (一部ムチカルミン) 粘液分泌細胞機能については疾患別に多くの報告があり、又最近では粘液成分の細分化による各々の組織化学的証明法が発達しているが、私はPAS反応が単に糖の構成成分である1,2-グリコール基等の特殊の原子団の証明法にすぎず、多糖類、粘液多糖類、糖蛋白質、糖脂質などの多くのものが反応する事をあらかじめ考慮して、胃冷凍における胃粘膜細胞中の粘液成分の変化をPAS反応 (一部ムチカルミン) にて追求した。

Mc Manus氏法⁵⁰⁾・凍結切片：ホルマリン食塩水で固定後凍結切片作製、0.5% 過沃素酸水溶液 5分間浸漬し溜水で充分水洗後 Schiff氏試薬に10分間浸漬・亜硫酸水を3回かえて水洗 (各々2分間づつ浸漬) 後3~5分間流水で水洗し、Harris氏ヘマトキシリン液で20~30秒間染色、5分間流水で水洗、95%アルコールを2回かえて脱水、純アルコール中に2回浸漬し、キシロール、バルサムにて封入し鏡検した。

McManus氏法⁵⁰⁾・パラフィン切片：ホルマリン固定後パラフィン切片作製、0.5% 過ヨード酸水溶液中に5分間浸漬し、溜水で充分水洗後 Schiff氏試薬中に15分間浸漬し、それ以後は凍結切片法と同じ、陽性部は赤紫色に着色するが、とくに凍結切片法の場合には、グリコーゲン検出されずに上皮性粘液、細網線維、基底膜が着色する。

ムチカルミン・Mayer氏法⁵¹⁾のSouthgate氏変法⁵²⁾：10%フォルマリン固定後水洗せずに70%アルコール中に移しパラフィン切片作製、脱パラ、水洗、Harris氏ヘマトキシリン液で核染色、水洗、ムチカルミン液15~20分間染色後溜水につけ、脱水、透徹、バルサム封入。陽性部は赤色に着色する。

PAS陽性細胞の量的判定には秋山⁵³⁾の基準を用い、なお細胞の染色性が異なるため、上皮細胞、胃底腺細胞、幽門腺細胞と観点をそれぞれ別にして、三段階に分けて判定した。

3. pH indicator method

胃酸分泌状態を肉眼的に観察する方法は、近年胃切除範囲の決定ならびに迷走神経切除の再検討、幽門洞の確認方法の追求と共に種々試みられた^{54)~56)74)75)}。

即ちヒスタミンにて直接壁細胞を刺激して塩酸を分泌する胃底腺と塩酸分泌のない幽門洞をpHの差によって識別しようとする方法である。それらのうち、私は槇⁵⁴⁾らの congo red-carbowax法と斎場⁵⁶⁾の neutral red法を用いて胃冷凍法の減酸効果を、標準型、二重型バルーン各群で検討し、更に迷走神経切断群と比較検討して胃冷凍法の迷走神経の遮断効果を追求した。

本実験には雌雄の雑種成犬16頭、即ち二重型バルーン群4頭、標準型バルーン群4頭、迷走神経切断群4頭、対照群4頭を使用した。

1) Congo red-carbowax 法 静麻の下に腹部正中切開、大彎側に沿って大きく胃を切開し、ヒスタミン0.01mg/kgを皮下に注射し、ヒスタミン刺激後25分に粘膜面を生理食塩水で十分に洗い、粘膜面への附着を容易にするために親水性カーボワックス1500Wに7%の割合にとかした congo red を塗布し、ヒスタミン刺激30分後の胃粘膜の着色状態により塩酸分泌を観察した。又、塩酸によつて青紫色~黒色となつた Congo red-carbowax を除去するためには1.5%重曹水を用いた。

2) Neutral. red 法 ヒスタミン0.01mg/kg皮下注15分後に1% neutral red 液を0.5ml/kg 静注しヒスタミン刺激1時間後の胃粘膜の着色状態により塩酸分泌を観察した。

3) 迷走神経切断術 迷切には頸部、横隔膜直上、横隔膜直下切断術がある。頸部片側切断は解剖学的関係から胃の前後両壁に影響がおよぶが、一方、横隔膜直下切断では前枝 (左枝、腹側枝) は主として前壁の、後枝 (右枝、背側枝) は主として後壁の酸分泌領域の縮少と pHの上昇が得られる⁵⁵⁾。このため横隔膜直下切断法によつたが、静麻の下に腹部正中切開後 congo red-carbowax 法にて検討した。術式は食道裂孔を開いて食道を腹腔内に引き出し、食道を被う腹膜に切開を加え、順次鈍的に旁食道結合織を全周にわたり剝離し、ガーゼを食道後部に通して腹側下方に牽引し、神経前後枝を遊離し次の順序に切断した。酸分泌領域はヒスタミン刺激を2時間間隔で3回復して与えても著変がないという報告⁵⁵⁾を参考にして、ヒスタミン刺激30分後の congo red carbowax の変色を対照として、その後に迷走神経前枝を切断し、1.5%重曹水で congo red-carbowax を除去し、胃粘膜を洗滌し、ヒスタミン刺激2時間後に2回目の刺激を与えて再度 congo red-carbowax を塗布し、30分後の分泌状態を観察した。次いで後枝を切断して同様に2時間後にヒス

タミン刺激を与えて30分後の分泌状態を観察した。他の2匹の犬では切断順序を変えて後枝→前枝の順に切断した。

III. 実験成績

1. 組織化学的成績

1) SDH-ase 活性

以下の項目についてSDH-ase活性の程度およびその経時的推移について検討した。

胃壁温度 胃壁(漿膜)温度条件を前述した如く10~6℃, 5~1℃, 0~-5℃の三群にわけて, まず杉村²⁶⁾の胃底腺領域壁細胞100%区域の酵素活性について述べる。

10~6℃群の壁細胞内SDH-ase活性は他の2群と異なり, 2週後に最低値を示したが, 1ヵ月後には対照群と同程度の活性を示した(図4)。

5~1℃群は冷凍翌日より1週後までは最低値を示し, 2週後より軽度減少群と減少群とにわかれて6ヵ月後まで持続した。教室北²⁴⁾は壁細胞の推移からみた最も適正な冷凍温度を3~1℃とし, この条件下で施行された場合には6ヵ月後まで壁細胞数の減少を認め

ているが, 5~1℃群では2週後より軽度減少群と減少群の2群の酵素活性が生じ, 量的な関係はかりでなく質的面でも壁細胞機能の低下が認められた。7ヵ月以降は対照値を示すものが多かつたが, 病理組織学的に腺の萎縮の強い部分には活性の低下がみられ(図5), 又, 腸上皮化生部は強い活性を示した。

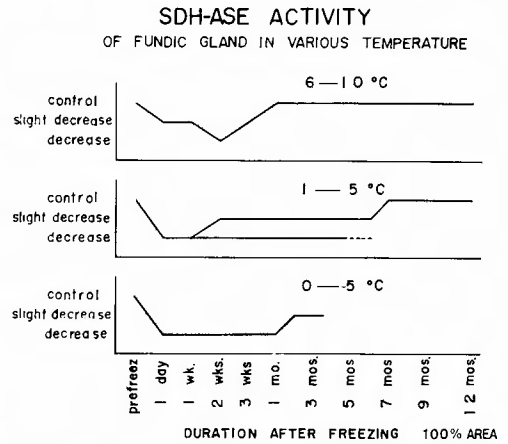


図 4

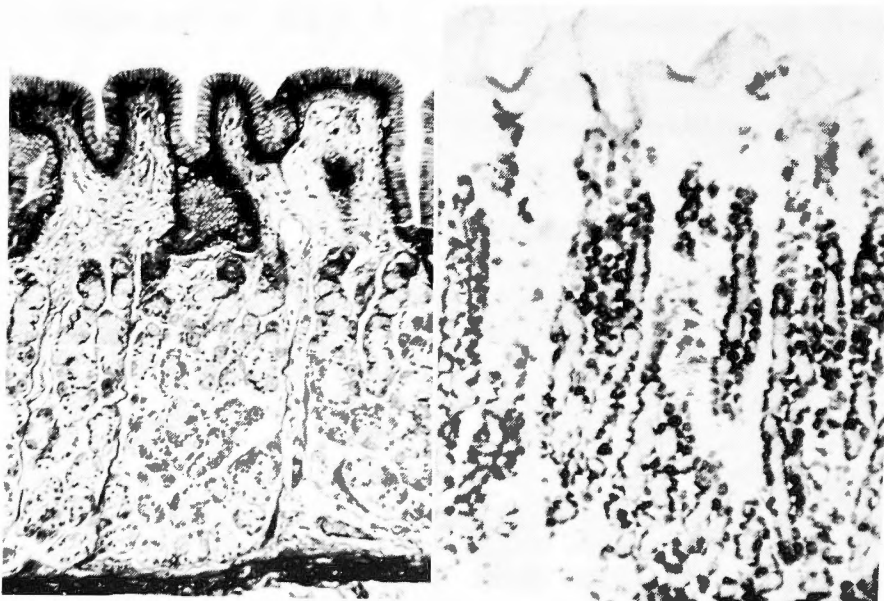


図 5

二重型使用, 6ヵ月後
腺頸部の線維性増殖, 腺構造のみだ
れ, 腺の萎縮, 腺窩上皮の増殖がみ
られる。 (×100 H. E.)

二重型バルーン群, 4ヵ月後
の SDH-ase 活性は低下し, 陽性細
胞数も減少している。 (×80)

一方、0℃以下の冷凍温度で施行された標準型、二重型バルーン群の生存例は少なく、急性冷凍潰瘍による胃穿孔、胃腸管大量出血などで死亡する犬が多かった。生存例の酵素活性では1ヵ月後まで減少し、3ヵ月まで軽度減少を示したが、その後腸上皮化生部の増強による見かけ上の回復がみられたが壁細胞自体の酵素活性は低下していた。

次に胃底腺領域壁細胞80～75%区域について検討したが、前述の100%区域の各温度群とほぼ同様の成績を得た(図6)。

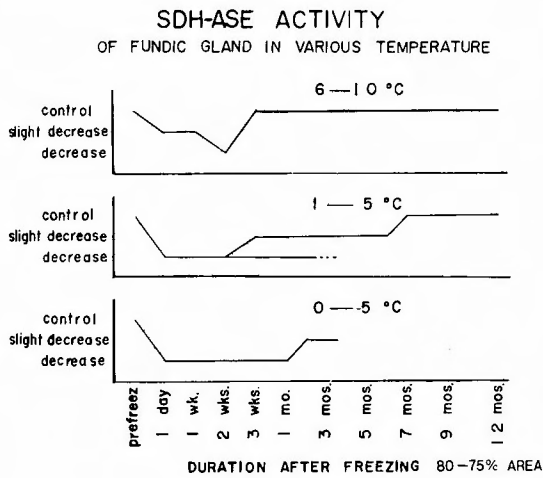


図 6

標準型、二重バルーン法 胃粘膜のSDH-ase活性は一般的に標準型バルーン群では1週後より2週後まで最低値を示すが、3週後より回復し、1ヵ月後にはほぼ対照群の酵素活性となり、その後12ヵ月でもその活性を示した。一方、二重型バルーン群は2週後より3週後まで最低値を示し、1ヵ月後より6ヵ月後まで酵素活性の低下を示すものが多かった(図7)。又、以上の所見のうち、特に胃底腺領域における同一時期の標準型、二重型バルーンのSDH-ase活性は次のようである。即ち、両バルーン群共に後壁の部分では陽性細胞数および酵素活性の強い細胞が前壁に比較すると多いが、酵素活性の分布状態は標準型では局所的に低下し、二重型ではおおむね均等に低下していた(図8、9)。又、病理組織学的にみた腺萎縮の範囲も二重型では広範囲で、しかも酵素活性所見より見た壁細胞機能は持続的な低下を示した(図10)。7ヵ月以降ではほぼ対照群の酵素活性を示したが、腺頸部壁細胞に酵素活性の低下を示しているのが認められた。

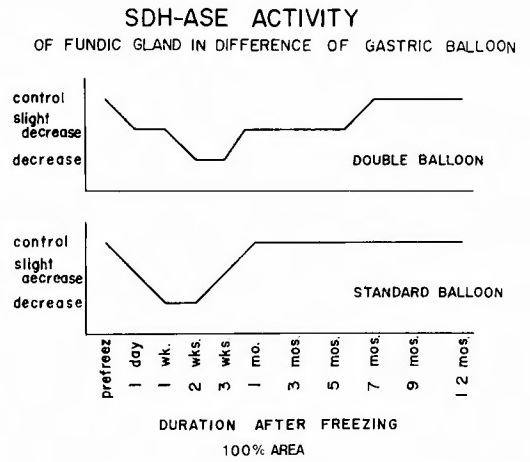


図 7

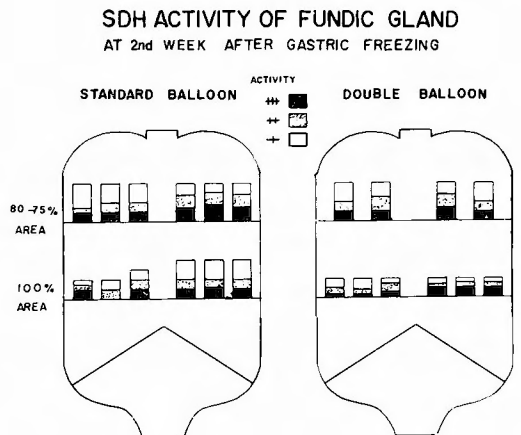


図 8

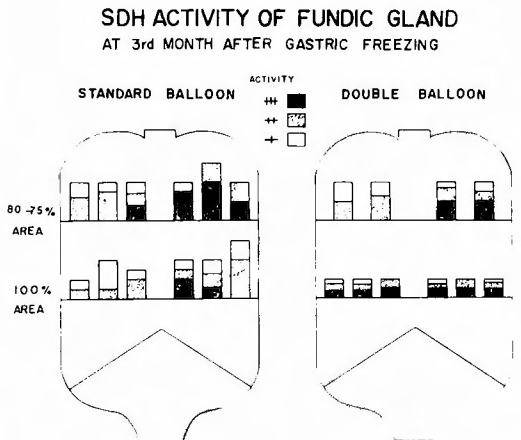


図 9

SDH-ASE ACTIVITY OF FUNDIC GLAND

(by Seigman's method)

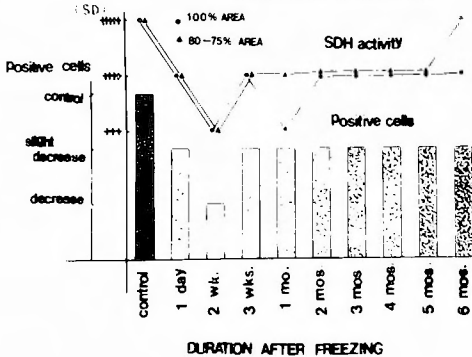


図 10

2) AcP-ase 活性

胃壁各温度条件の二重型バルーンによる AcP-ase 活性は、10～6℃群では1週後までは著明に減少し、2週より3週後までは軽度減少を示し、1ヵ月後より対照群の活性を示すものが多かつた。

5～1℃群は2週後まで著明に減少し、1ヵ月後より3ヵ月後の間は対照群の酵素活性を示すものが多かつたか、それ以降に再度酵素活性の軽度減少群が出現して2群に分かれた。活性低下群には腺の退行変性（萎縮，細胞消失）が認められるが多かつた。

0℃以下では3週後まで著明に減少し、1ヵ月以降は広範囲の腸上皮化生部の出現によりみかけ上の酵素活性の増強があるが主細胞自体の酵素活性は低下していた（図11）。

ACID PHOSPHATASE ACTIVITY

OF FUNDIC GLAND IN VARIOUS TEMPERATURE

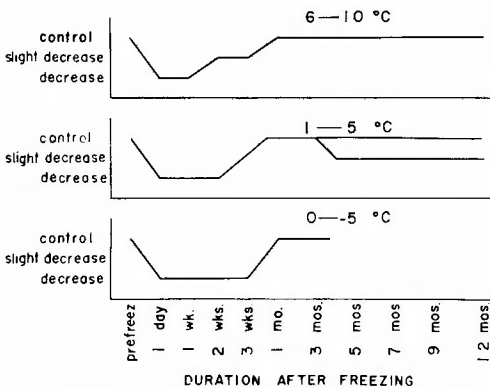


図 11

一方、標準型の AcP-ase 活性は1週後まで著明に低

下し、3週後より対照群の活性を示すものが多くみられ、胃壁の冷凍温度勾配が大きいために生じる冷凍効果の不確実性を示していた（図12）。

ACID PHOSPHATASE ACTIVITY

IN DIFFERENCE OF GASTRIC BALLOON

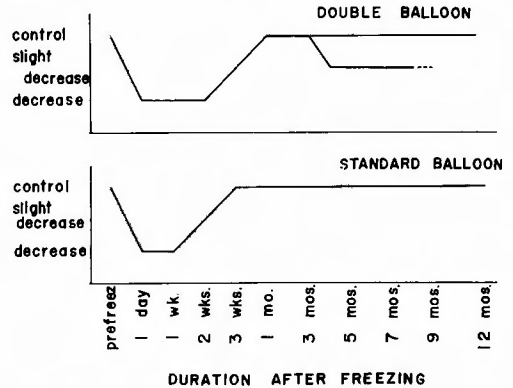


図 12

3) PAS反応（一部ムチカルミン）

胃壁温度 胃底腺領域のPAS反応は、10～6℃群では1週後より1ヵ月後まで低下し、その後は対照群の反応に回復した（図13）。5～1℃群は2週後より6ヵ月後まで低下を示すものが多く（図14）、その後対照群の反応にもどつた。一方、0℃以下の群は1週後まで対照群より強い反応を呈し、それ以降3ヵ月後まで低下していた。各群共に冷凍直後より数日間強い反応を示した（図15）。

幽門腺領域は、早期に対照群の反応に回復したが、これは胃底腺領域に比して充分な冷凍温度が得られない事と、一定の温度勾配を保持する事が困難であつたためと考えられる。

標準型、二重型バルーン法 胃底腺領域のPAS反応は両群共に冷凍後に一過性の強い反応を示したが、二重型は2週後より低下してそのまま7ヵ月後まで持続し、その後対照群の反応に回復した。一方、標準型では1週後まで対照群より強い反応を呈し、3週後より低下したが3ヵ月後には対照群の反応に復した（図16、17）。

幽門腺領域では、両群共に大差なく冷凍直後より1週後までは対照群より強い反応を示し、その後軽度低下する群もあつたが、大部分はすぐ対照群の反応を示した（図18）。

4) 各種薬剤による酵素活性

胃酸分泌刺激剤としてヒスタミン、同じく抑制剤と

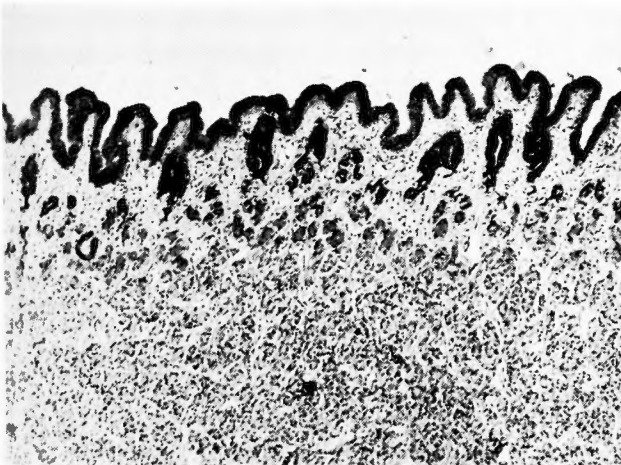


図13 二重型バルーン 5 ヶ月後, 100 %
区域, 9°C
ほぼ対照群の反応に復している。
(×80 PAS)

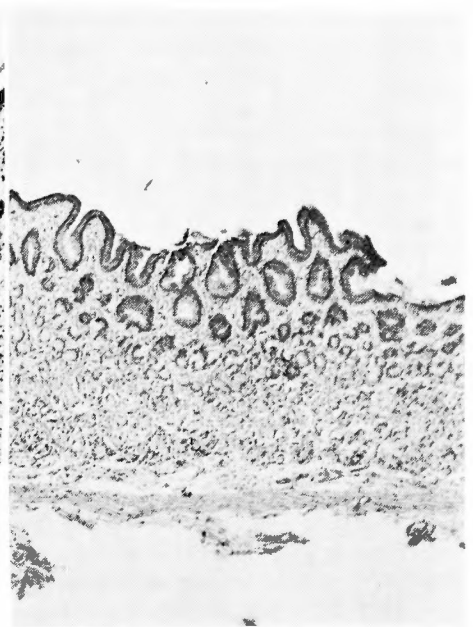


図14 二重型バルーン, 3 ヶ月後, 4°C
表層上皮も腺細胞も反応低下が著
明。(×80 PAS)

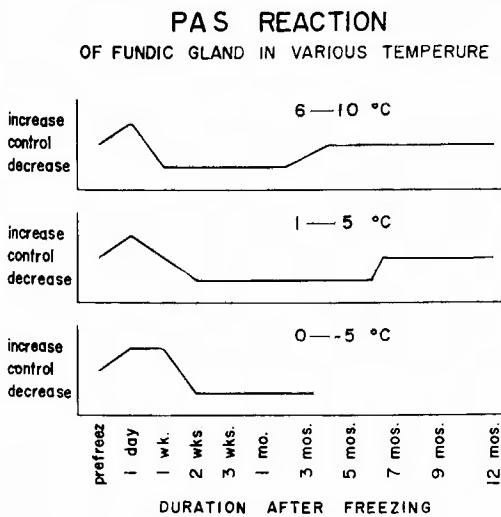


図 15

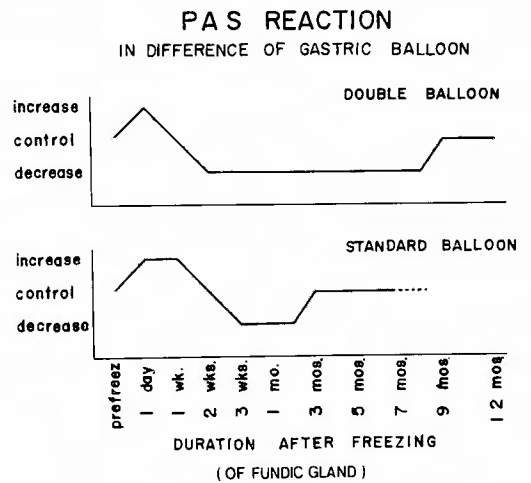


図 16

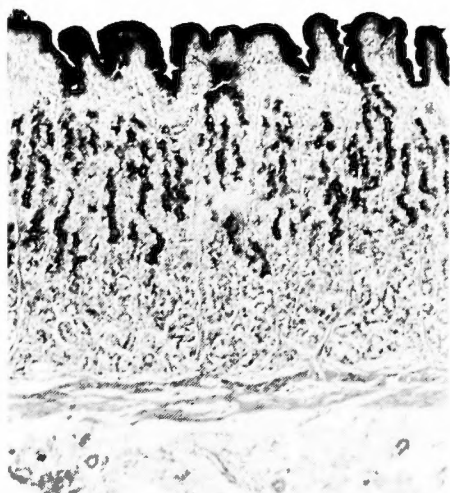


図17 標準型バルーン, 3ヵ月後, 8°C
表層上皮は肥厚しているが, 対照
群の陽性反応を示している。
(×80 PAS)

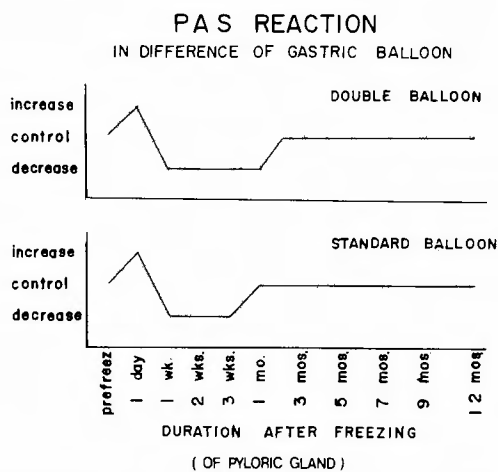


図 18

してブスコパンを対照群, 冷凍群に投与して, それぞれのSDH-ase活性を比較検討した。

そのうち対照群ではすでに諸家^{30)32)~35)38)}によつて報告されているように刺激剤による増強と抑制剤による活性低下が認められた。

胃冷凍群ではヒスタミン刺激で同一組織切片中に対照群よりも酵素活性が著明に低下している壁細胞が

存在して冷凍効果が認められ, 特に腺頸部壁細胞にこの傾向が強かつた (図19)。ブスコパンでは対照群とほぼ同程度に低下した。

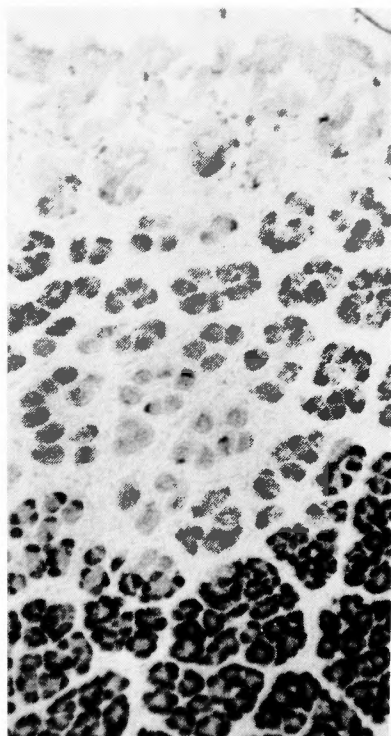


図19 胃冷凍, 5~1°C. ヒスタミン刺激時の SDH-ase 活性は腺頸部に著明に低下している部分が存在している。(×80)

AcP-ase 活性では対照及び冷凍両群共に上述薬剤による著明な酵素活性の差は認められなかつた。

PAS 反応ではヒスタミン刺激によつて SDHase 活性と同様の増強が認められ, これは大井⁶¹⁾, Hunt⁸⁵⁾らが, 充分量のヒスタミン投与によつて胃底部, 幽門部の胃液分泌細胞が刺激され, 壁細胞のみでなく, その他の細胞機能も亢進すると述べ, Glass⁶⁰⁾が塩酸分泌が増加すれば胃粘液分泌も増加するとし, 又, 秋山⁵³⁾のPAS陽性物質の増加とSDH-ase活性の増強は正の相関があるという報告と同様の所見であつた。

2. pH indicator methodによる胃冷凍法の胃酸分泌抑制効果の検討

この方法はヒスタミン刺激により壁細胞から塩酸を分泌させて, 分泌のない幽門洞をpHの差によつて識別する方法で, 同時に胃底腺領域における壁細胞機能

(塩酸分泌)の状態をも追求する事から来る⁵⁵⁾。

1) Congo red-carbowax法

横⁵⁴⁾ら、白鳥⁵⁵⁾らの方法によつて胃切開により胃粘膜を十分に露出後、ヒスタミン刺激を与え、pH 3 以下で変色する congo red の状態を観察した。

標準型バルーンによるものは塩酸分泌抑制効果が不均等で、かつ壁細胞機能(塩酸分泌能)が早期に対照群の状態に回復した。このような塩酸分泌状態は、後述する横隔膜下迷走神経の片側切断例に類似していた(図20(a), (b))。一方、二重型バルーンによるものは冷凍5ヵ月後まで塩酸分泌領域の縮少が認められ、後述する横隔膜下迷走神経両側切断例に類似していた(図21(a), (b))。

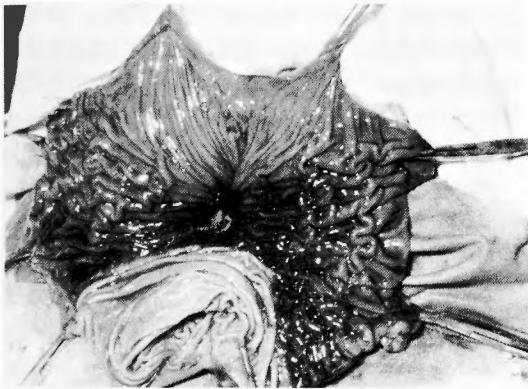
したがつて Wangenstein¹⁾²⁾らが胃冷凍法に期待し

た迷走神経遮断効果は胃底腺領域を比較的均等に冷凍する二重型バルーン群に認められたが、標準型では早期にその遮断効果が失われて塩酸分泌の回復を示し、不均等な遮断効果を示すにすぎなかつた。

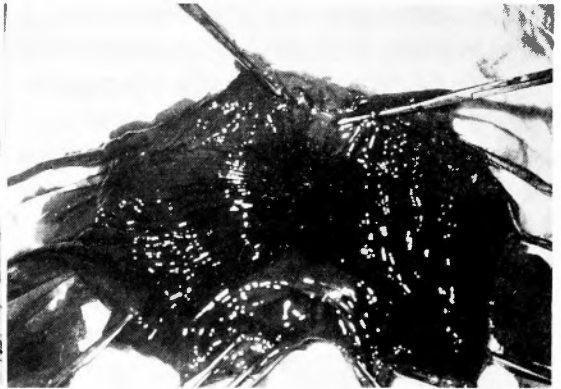
2) Neutral red 法

番場⁵⁶⁾の方法に従い最も明確に識別されるという1時間後の塩酸分泌状態を観察した。しかし、対照群、冷凍群共に識別困難であつた。番場は胃粘膜内の毛細血管血流による紅色調と neutral red による色調が類似しているためと述べ、同部を指圧して虚血状態になると色素沈着による紅色調のみが残存するとしているが、このような繁雑な手技を要する観察法よりは congo red-carbowax 法が実用的で判定也容易であつた。

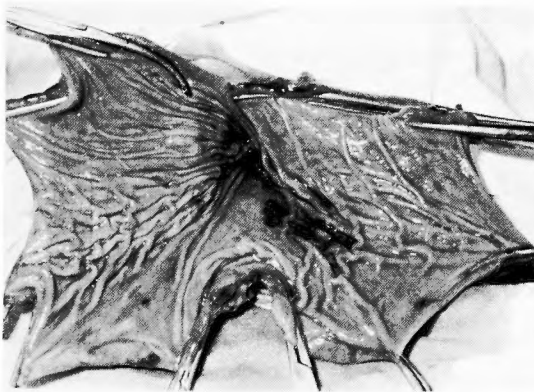
3) 迷走神経切断群との比較



a) 2週後、ヒスタミン刺激にて、前壁のみ発色低下している。



b) 2ヵ月後、対照群の発色状態に復している。



a) 2週後、congo red-carbowax の発色は全般的に弱い。



b) 5ヵ月後、発色状態は低下していて範囲も縮少している。

図21 二重型バルーン使用群

図20 標準型バルーン使用群

片側切断群 横隔膜直下にて迷走神経を切断した場合には、頸部切断のような前後両壁におよぶ影響は少なく、前枝切断では主として胃前壁の、後枝切断では主として胃後壁の分泌領域の縮小をきたした(図22)。

両側切断群 著明な分泌領域の縮小が認められたが、胃体部の幽門洞の境界に近い粘膜の塩酸分泌は比較的良好に保持されていた(図23)。

既述のように迷走神経片側切断群は、標準型バルーン使用による胃冷凍群に、又、両側切断群は、二重型バルーン群に類似した塩酸分泌(congo redの変色状態)を示した。

IV. 総括並びに考按

従来胃冷凍法の目的は、主として胃塩酸分泌細胞自体の障害、迷走神経遮断および幽門前庭部の反応抑制などによる持続的な減酸効果により潰瘍を治癒しようとするものである。しかしそれらの機序は組織化学的方法により一層解明し得ると思われるが、それに関する報告はみられない。そこで著者は教室にて開発した壁細胞機能を持続的、且つ広範囲に障害し、更に胃壁の局所損傷を生じない胃底腺領域の平等冷凍法の組織化学的意義を追求し、且又それらより潰瘍治療上最も効果の期待しうる冷凍温度条件について検索した。以下次の項目について著者の成績を総括し、2, 3 考察を加えてみたいと思う。

1. 胃粘膜の組織化学

SDH-ase活性 SDH-ase活性がPadykula³¹⁾により胃粘膜壁細胞内に高度に見出されて以来、Villarreal & Burgos³²⁾, Telkka & Kussisto³⁸⁾はこの酵素活性と酸分泌との関連を検討し、分泌刺激剤としてシロネズミにメコリールを、カエルにヒスタミンを与えた場合に

SDH-ase活性が増強し、又、三好³⁰⁾はシロネズミに刺激剤としてヒスタミンとハイドロコチゾンを、抑制剤としてアトロピンとブスコパンを与え、刺激剤では増強し、抑制剤では低下する事をみている。又、ヒトにブスコパンとヒスタミンを投与してその前後におこなった胃生検からも同様の所見を報告しており、この胃生検所見は吉利ら³⁴⁾も同様に述べている。一方、生化学的測定法である胃粘膜ホモジネートを使用したVital et al³³⁾および三好³⁰⁾の成績でも同様の結果が得られ、又、過酸症の多い十二指腸潰瘍の患者では組織化学的、生化学的測定法の両方法共にこの酵素活性が著明に高い⁵⁰⁾。これらの事に関して Schnitka³⁵⁾は組織化学的方法による壁細胞内のformazanの沈着は、電子顕微鏡像で壁細胞内に多数のミトコンドリアが含まれていることを証明した Hally³⁶⁾の成績に一致して壁細胞内に多数存在するミトコンドリアに関係し、且又、壁細胞の酸素消費量が他の細胞よりも多いことを報告した Davenport³⁷⁾の見解にも一致し、壁細胞内の代謝機構に関与するSDH-aseが塩酸分泌に関連するためと考察している。

著者の胃冷凍法の実験成績の総括は後に詳述するが、一般的にSDH-ase活性は壁細胞機能を表現し、冷凍後は対照群より活性の低下が著明にみられ、冷凍後の塩酸分泌量の低下とも平行していた。

AcP-ase活性 この酵素の検出法は、Gomori (1941) によつて AcP-aseにより遊離された無機の phosphoric acid を可視金属塩として捕捉する原理の下に確立され、金属塩法である Gomori の pbs 法と Rutenbergs の 6-Br (または benzoyl) naphthol 法、Burstons の naphthol A 法や azo 色素結合法が使用されているが、それぞれに問題点があり、金属塩法には周囲への拡散

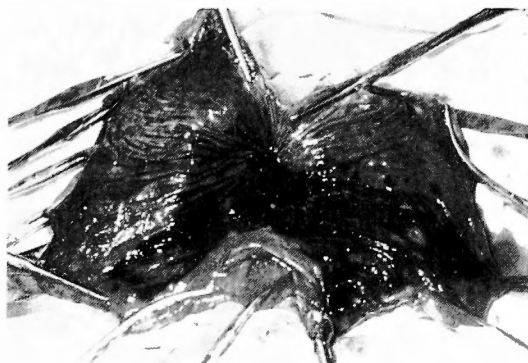


図22 前枝迷走神経切断，主に前壁の発色が低下している。

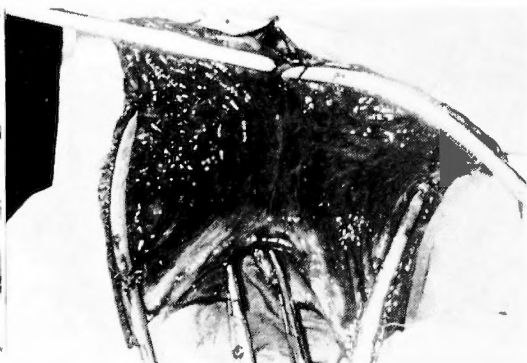


図23 前後枝切断，発色は全般に弱い。

や非特異的な反応生成物の沈着による見かけ上の陽性所見や原因不明の染色ムラが見られるといわれ²⁷⁾²⁸⁾、又、Lison²⁷⁾によれば azo 色素結合法にもこの様な不規則性が見られるという。報告者によりその成績は差異がみられ、Gomori 法では、Gomori⁴²⁾は主細胞に強く、壁細胞陰性、Correia et al⁴³⁾は主細胞強陽性、壁細胞陽性、Planteydt⁴⁴⁾は表層上皮陽性、主細胞中等度陽性、壁細胞陰性、脇坂ら⁴⁵⁾、三好³⁰⁾も同様であり、中村⁴⁶⁾は表層上皮疑陽性～陽性、主細胞、壁細胞陽性と報告している。Rutenberg 法では Reiner⁴⁷⁾は壁細胞に強い活性を示すが一定の反応を示さないで部位により変化があるとし、Roseman⁴⁸⁾は Gomori 法と比較して壁細胞は Gomori 法ではごくわずかの活性を示すのみだが Rutenberg 法では強陽性を示すといひ、この事は Gomori 自身も認めている⁵⁷⁾。Burstone 法では、Langr⁵⁸⁾は上皮細胞陰性で腺底部に強いとのみ述べ、松峯⁵⁹⁾は上皮細胞中等度陽性～陽性、壁細胞疑陽性～陰性、主細胞強陽性、副細胞中等度陽性、幽門腺細胞中等度陽性とし、中村⁴⁵⁾は上皮細胞疑陽性～陽性、主細胞陽性、壁細胞陽性、基質疑陽性、粘膜筋板陰性、血管陽性と報告している。しかし、一般に表層上皮細胞、主細胞、壁細胞、幽門腺細胞等に活性を認め、特に主細胞に強いことを指適して胃液分泌との密接な関連性を示唆している報告³⁰⁾もある。

私は、胃冷凍実験にて胃液分泌（ペプシン分泌量）と AcP-case 活性の推移とを比較検討したが、ほぼ平行的に推移する相関々係をみており、AcP-case 活性と主細胞機能とに関連性があるものと考えた。

PAS 反応（過ヨード酸 Schiff 氏反応）最も広く使用されている多糖類の証明法で、原理は過ヨード酸が糖の構成成分の一部である 1,2-グリコール基(-CHOH-CHOH-)に働いて酸化アルデハイド基を形成することを証明する方法であるが、しかし単に構成成分中のある特殊な原子団の証明にすぎず、この反応で陽性を呈する物質は多く、一般的には-CHOH-CHOH-基を有する高分子炭水化物、ヒドロキシルアミンを有する蛋白、グリコーゲン、澱粉、セルロース、糖脂質、糖粘液多糖類、粘液蛋白、糖蛋白等が陽性を示すといわれている²⁹⁾。PAS 反応の程度（濃度）ないし量の判定は研究者それぞれの規定方法によつて述べられ、又、陽性細胞が表層上皮細胞、幽門腺細胞、胃底腺細胞、腸上皮化生細胞、偽幽門腺細胞等数種類におよび、且、それら細胞にて染色性が異なるため、PAS 陽性物質の量の判定標準には複雑な要素が加わるので、著者は秋

山⁵³⁾の判定方法に従ひ、染色濃度、染色量（細胞自由面より核上部までの高さ）、PAS 陽性細胞数等を総括した量の判定にて行なつた。胃粘液分泌に関しては Glass⁶⁰⁾をはじめ大井⁶¹⁾、詹⁶²⁾、高野⁶³⁾、小野⁶⁴⁾ら多数の報告があり、Glass によれば胃粘液は溶解粘液と可視性粘液に二大別され、溶解粘液は更にムコプロテインとムコプロテオーズに分けられ、ムコプロテインは腺頸部主細胞、幽門腺細胞、噴門腺細胞から分泌され、ムコプロテオーズは上皮細胞から分泌されたムコイドが酵素の作用を受けて変化するものとし、その一部は可溶性ムコイド様物質として腺頸部主細胞、幽門腺細胞、噴門腺細胞から分泌されるとし、一方、可視性粘液は上皮細胞より分泌されたムコイドと水、電解質、酵素および脱落細胞などの混入して出来た complex gel であるという。しかし古来より用いられているムチン、ムコイドの各前は、元来化学的に命名されたものでないために非常に混同して使用され、したがつて報告されている分泌細胞云々は、不明確な点が多い。ムチン (mucin) とは、本来は種々の器官とくに管腔臓器の内表面を被う粘潤な物質に与えられ、その後 Wharton 氏膠、粘液腫における組織内物質にも拡張して適用し、上皮性粘液と結合織性粘液の名が生じたが、一方、ムコイドは Lehner らによつて組織学的立場からムチンと異なるものとして導入され、Best 氏カルチンに染まるメタクロマジー陰性の粘液とし、ムチンはその逆とした。Meyer⁶⁵⁾は生化学的立場からヘキソサミン（ヘキソースの尿酸基をアミノ基で置換したもの）を粘液蛋白構成成分中に 1% 以上含むものをムコプロテイン (mucoprotein) としムコイドと同義に用ひ、4% 以下をグリコプロテイン (glycoprotein) とに分けた。組織化学的には、ムチンは上皮性、非上皮性を問わず酸性基を有する粘液を、ムコイドは酸性基を持つていない中性粘液蛋白を指すと考えられている²⁹⁾。つまり、ムコイドは PAS 反応陽性である一方、通常の粘液を染めるムチカルミン等の色素に不染で好塩基性もメタクロマジーも示さないで酸性基を有していないという事になる。いずれにせよ PAS 陽性物質であることには変わらないが、著者は、一部ムチカルミン染色にてムコイドとムチンを比較検討したが、実験成績自体には大きな差はなかつた。

2. 胃冷凍による胃粘膜の組織化学的变化

SDH-case 活性、10～6℃、5～1℃、0～-5℃群ともに冷凍直後より 2 週後までは著明に低下し、同一組織切片中にはほぼ均等な状態の壁細胞機能低下を示した

が、10～6℃群では、ほぼ1ヵ月後には対照群の活性に復した(図24)。5～1℃群は冷凍後より6ヵ月後まで活性の低下している群と軽度低下している群の2群があり、同一組織切片内の壁細胞機能の低下は、酵素活性が強弱さまざまに混在し、且又、対照群に比しSDH-ase陽性細胞数の減少にて示された。特に腺頸部迄の細胞に少ない傾向があり(図25)、教室の北²⁴⁾の壁細胞の推移よりみた組織学的実験成績とも関連性を有していた。0～-5℃群の活性は低下していたが、腺萎縮が強くなり、且、線維性増殖が進み、腺細胞が消失する²⁴⁾ためと考えられ、三好³⁰⁾の報告による萎縮性胃炎におけるSDH-ase活性の低下と類似していた。

AcP-ase活性 3温度群共に冷凍1ヵ月後には対照群の活性にもどつたが(図26)、5～1℃群には3ヵ月後より再度活性の低下する群が出現した(図27)。SDH-aseの場合と同様に腺の萎縮と細胞の消失によるものと考えられる。0～-5℃群の腸上皮化生細胞は強い酵素活性を示したが、主細胞機能(陽性細胞数)は低下していた。これらは萎縮性胃炎の場合にAcP-ase活性が低下するという報告に一致していた⁵²⁾⁶⁸⁾。

PAS反応 胃底腺領域の場合は3温度群共に冷凍直後は対照群より強い反応を示したが、次第に低下し、10～6℃群は1ヵ月後に対照群の反応にもどつたが、

5～1℃群、0℃以下の2群は6ヵ月後まで持続して低下し、腺萎縮に応じてPAS反応は低下するという報告⁵³⁾に一致していた。

一方、幽門腺領域の場合は冷凍温度が胃底腺領域より高いため、標準型、二重型バルーンによる差異はなく両群共に冷凍後に一過性に増強し、その後は早期に対照群の反応に復し、胃冷凍が主に胃底腺領域に強い影響を与えている事が認められた。

3. 二重型バルーン法による胃冷凍と標準型バルーン法による胃冷凍における組織化学的变化

SDH-ase活性 標準型バルーン使用による不平等冷凍の結果は、陽性細胞数が同一組織切片内でも均等に減少せず、又、胃壁の部位(ヒに後壁)によつて強い酵素活性が維持され、しかも早期に対照群の酵素活性にもどる事である。一方、二重型バルーン使用による平等冷凍では、同一切片内の陽性細胞数がほぼ均等に減少し、又、胃壁全般に均等な酵素活性を示し、しかも酵素活性が5～6ヵ月間も抑制されている事が判明したが、持続的な減酸効果によつて潰瘍の治癒を期待したWangensteen¹¹²⁾らの目的達成の可能性が示されていると考えられた。

AcP-ase活性 標準型バルーン群は、冷凍後の活性低下が3週前後に対照群の活性に復し、しかも局所的

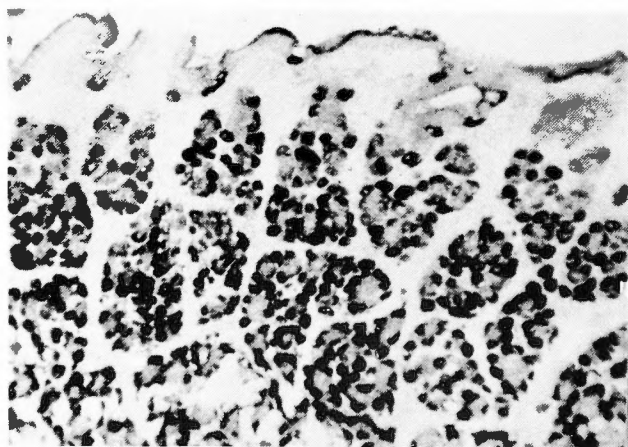


図24 標準型バルーン, 1ヵ月後, 9℃, 100%
区域, ほぼ対照群の活性を示す。
(×80 SDH-ase)

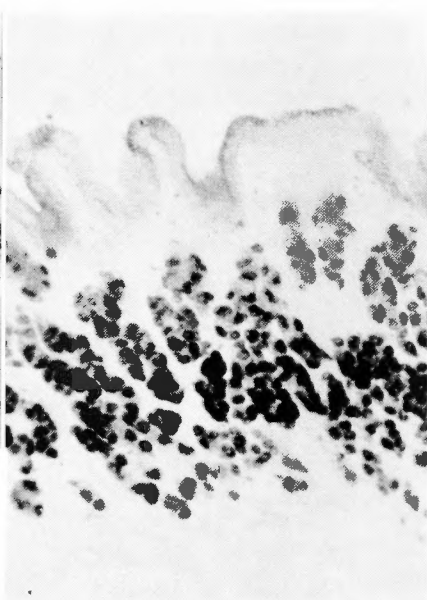


図25 二重型バルーン, 3℃, 100%区域,
6ヵ月後, 強い陽性細胞数は腺頸部
まで減少している。(×80 SDH-ase)

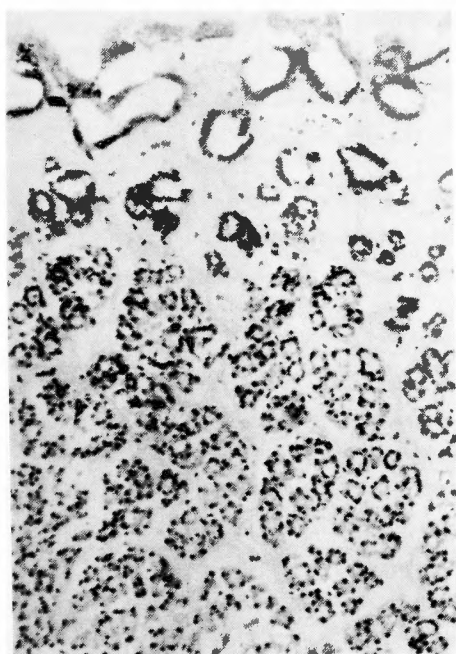


図26 標準型バルーン，1ヵ月後，8°C.
100%区域，対照群の酵素活性に
復している。（×80 AcP-ase）

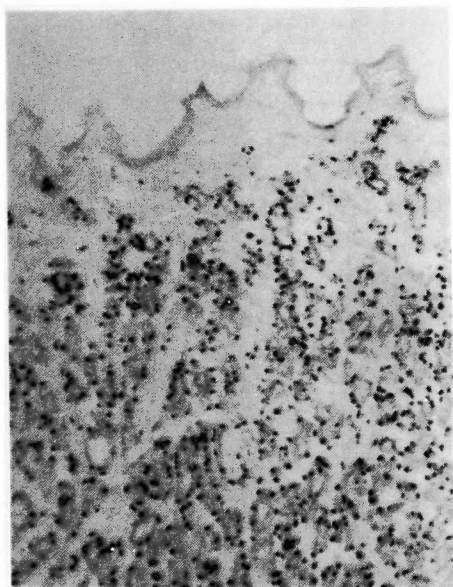


図27 二重型バルーン，3ヵ月後，3°C，
酵素活性が再度低下する群が出現
する。（×80 AcP-ase）

に低下する例が多かった。一方、二重型バルーン群は、1ヵ月前後に対照群の活性に復し、3ヵ月後に再度低下する群が出現したが、多くの場合は腺の萎縮が認められたが、少数例に腺の萎縮消失を伴わず、必ずしも腺の萎縮の程度とは平行しなかった。この事は中村⁴⁰⁾の慢性胃炎では胃底腺萎縮のみではAcP-ase活性には著変がないという報告に略々一致したが、Ragins⁶⁹⁾はイヌの場合のAcP-ase活性はヒトの場合と異なつて、Gomori法(pbs)とazo色素法に対する主細胞と壁細胞の活性状態より次の3型、1)両法共に主細胞に強く壁細胞に弱いもの、2)pbs法では主細胞に弱く壁細胞に強いが、azo色素法では逆のもの、3)pbs法ではある部分では主細胞に強く壁細胞に弱い、又、ある部分では逆となり、azo色素法では主細胞に強く、壁細胞では強弱さまざまのもの、があるとし、その3群の出現する原因として、1)AcP-ase活性には動物における個体差があるのか、2)生体がある条件下による変動状態にあるためなのか、3)イヌではAcP-aseが2種類あるのか、4)酵素活性が何らかの因子によつて変動しているためなのか、と述べている。著者の胃冷凍(二重型バルーン群)後に出現したAcP-ase活性低下群と低下しない群との発生要因は、一般的には低下群は腺頸部にまで及ぶ線維化、腺の消失、腸上皮化生の出現など胃粘膜に高度の萎縮性変化が生じているためとも考えられるが、必ずしも萎縮性変化ばかりで説明されない場合もあり、一定時間、同一の温度条件下におかれ、同一状態における一定期間後に、同一の方法にて検討された場合でも、イヌそれぞれが同じ組織修復能力を持つとはかぎらないために、上述したAcP-aseの変動が生じたものと考えられる。

PAS反応 胃底腺領域における標準型バルーン群は、冷凍後一過性に対照群より強い反応を示すが、その後3週より2ヵ月後まで低下し、3ヵ月前後には対照群の反応に復した。一方、二重型バルーン群は7ヵ月前後まで低下を示すものが多かつた。両群共に冷凍直後にPAS反応の増強が認められたが、胃粘膜の外來刺激(胃冷凍)に対する防禦反応とも考えられる。PAS反応の低下は、腺萎縮によつて分泌細胞数および機能が減退し、したがつてPAS反応が低下するという報告⁵⁹⁾⁶⁸⁾より考察するに、二重型バルーン群はほぼ均等に胃底腺領域を冷凍し、胃粘膜の退行変性を起こし、特に腺頸部迄の細胞機能に抑制効果を持続していることが判明した。8ヵ月以降に対照群の反応にもどつたが、再生された表層上皮細胞および腸上皮化生細胞が

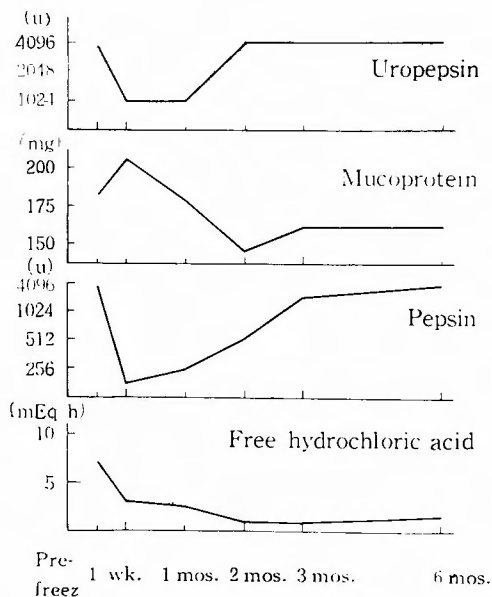
認められた。

4. 胃冷凍後の胃液分泌と組織化学的变化

塩酸分泌の消長とSDH-ase活性 教室の村井²⁵⁾の検討によれば、二重型バルーン群の胃底腺領域100%区域(杉村²⁶⁾)の胃漿膜温1~3℃冷凍群は6ヵ月後まで持続的に減酸しており(図28), 4~6℃, 7~9℃群では4週から8週において胃酸の再上昇および反動現象がみられるという。この成績と関連してSDH-ase活性でも、10~6℃群では1ヵ月後に対照群の活性に復し冷凍効果が早期に消失しているが、5~1℃群では5ヵ月後迄低下している群と6ヵ月後迄軽度減少している群の2群があり、壁細胞機能抑制効果が比較的長期間持続していた。最近胃生検によつて胃液酸度と胃粘膜の組織化学的所見が論じられているが、一般に腺萎縮には低酸、無酸が随伴するとされ、三好³⁰⁾は萎縮性胃炎の大多数にSDH-ase活性の低下を認め、原発性胃炎の酸度の低下には、壁細胞の減少が主因となるか、さらに壁細胞内のSDH-ase活性の低下も関係するとし、吉利³⁴⁾らも生検例で同様の見解を述べている。したがつて5~1℃群は胃粘膜の萎縮性変化のために

SDH-ase活性が低下しているものと考えられ、又、胃酸の低下とも相関々係が認められた。以上の如く胃冷凍によつて生じる胃粘膜の萎縮性変化は、原発性胃炎のSDH-ase活性に類似しており、随伴性胃炎とは異なつていた。三好³⁰⁾によると胃潰瘍に伴なう胃炎ではSDH-ase活性は半数以上が正常で低下を示したのは28%、逆に活性の亢進が原発性胃炎よりかなり多いというが、過冷凍によつて生じた胃冷凍潰瘍の場合には、通常の胃潰瘍と異なり、低酸、無酸が多いためか、三好の成績とは一致せず、むしろ原発性胃炎の酵素活性の所見に近かつた。又、三好はSDH-ase活性と胃液酸度とがよく平行し壁細胞数の減少あるいは消失のほか、個々の腺細胞の機能にも関連があるとしている。

以上の事より胃冷凍後の胃酸の消長とSDH-ase活性とを併せ考えるに、6ヵ月後まで正の相関々係を示すのは胃粘膜の萎縮性変化によるものと考えられ(表1), 7ヵ月以降に対照群と同様の活性を示すのは、胃冷凍法が腺頸部までの細胞機能の抑制効果を持つが、腺底部細胞迄には充分な抑制効果を持たないためと考える。



1) Duration after freezing

Changes of gastric secretory response after gastric freezing

図28 胃底腺の100%区域, 1~3℃冷凍群の二重型バルーン使用による胃液分泌の消長。(村井²⁵⁾による)

ペプシン分泌の消長とAcP-ase活性 教室の村井²⁵⁾は、二重型バルーン群におけるペプシンの分泌は胃漿膜温4~6℃群では冷凍後1週で著明に減少し、3ヵ月ではほぼ回復するが、1~3℃群では冷凍後1週で急激に下降し、1ヵ月後までそのまま持続し、1ヵ月半頃より上昇して6ヵ月ではほぼ冷凍前値に回復すると述べている(図28)。この成績とAcP-ase活性とはほぼ類似の傾向がみられ、10~6℃群では2週後より活性の回復がみられ、1ヵ月後では対照群の活性を示し、5~1℃群では3週より回復し始め、1ヵ月後より対照群の活性を示すものと、その他に3ヵ月以降に再度活性の低下を示す群の2群に分かれた。AcP-ase活性の低下については、松峯⁵⁹⁾、高瀬⁶⁰⁾の原発性胃炎において腺萎縮の強いほど減弱するという報告に略々一致して、萎縮性病変部においてはAcP-ase陽性の主細胞、壁細胞の萎縮消失が生ずるために全体としてのAcP-ase活性は低下していた。Ragins⁶⁹⁾はAcP-ase活性は萎縮性胃炎においてやや増加すると述べ、又、Madden⁷⁰⁾、中村⁴⁶⁾は萎縮性胃炎では特に変化がないとしているが、これはAcP-aseの組織化学的検出方法自体にも前述した種々の問題があり、又著者の実験成績からも胃冷凍という人為的に与えられる条件に対するイヌの修復能力差の未解決の問題があるため明確に判定出来ない。一方、腸上皮化生(metaplasia)はMagnus⁷¹⁾,

Table 1 Histological changes of the gastric mucosa and the parietal cells at various gastric wall temperature

		Duration after freezing				
		60mins ~ 24hrs	1 wk	2 wks	3 wks	6 mos
Temperature of freezing	-5°C -3°C	Serious stasis	Perforation	Loss of mucosal glands		
		Necrosis of parietal cells	Ulceration	Marked fibrosis		
		Scattered of karyorrhexis	Cystic dilatation including a massive damage cells	Metaplasia of epithelium		
		Bleeding		Cystic dilatation		
		Cell infiltration	Marked fibrosis			
		Intestinal edema				
	-1°C 0°C	Medium stasis	Ulceration, Erosion	Metaplasia of epithelium	Metaplasia	
		Necrosis of parietal cells	Medium fibrosis	Cystic dilatation	Fibrosis	
		Intestinal edema	Loss of gland	Fibrosis	Loss of mucosal glands	
		Necrosis of mucosal surface	Cystic dilatation			
	1°C 3°C	Slight stasis	Atrophy of glands	Atrophy of glands	Slight cystic dilatation	Fibrosis in neck region
		Atrophy of glands	Proliferation foveal epithelium	Slight fibrosis	Slight fibrosis	Normal epithelium
		Intestinal edema	Atrophy of parietal cells	Slight thrombic changes in submucosa		
	5°C 10°C	Slight atrophy of glands	Elongation of glands	Normal glands and parietal cells		
		Slight elongation of glands	Normal parietal cells			
		Normal parietal cells				

Guiss & Stewart⁷²⁾によれば萎縮性胃炎に出現し、化生の程度は胃粘膜の萎縮、荒廃と平行すると述べているが、この腸上皮化生部に関する多くの報告³⁴⁾⁴⁴⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾⁶⁸⁾⁷¹⁾⁷²⁾に一致して、胃冷凍後における化生部の AcP-ase 活性の増強が認められた。

粘液成分の消長とPAS反応 胃液のムコプロティンは村井²⁵⁾によると、二重型バルーン群では胃漿膜温2~6°C冷凍後2ヵ月に最低値を示し、その後次第に回復して4ヵ月後には冷凍前値より20%前後の低下を示す。又、1~3°C群では冷凍後より1週後まで冷凍前値より高値を示すが、その後減少して2ヵ月後に最低値を示し、6ヵ月後でも12%前後減少しているという(図28)。胃底腺領域におけるPAS反応でも、10~6°C群では1週後より1ヵ月後まで減少しているが、その後回復して3ヵ月後にはほぼ対照群の反応に復し、5~1°C群では2週後より7ヵ月後迄PAS反応の低下が認められた。

PAS反応には酸性基を有するムチンと酸性基を有していないムコイド(ムコプロティン)共に強陽性に反応するが、ムチカルミン染色にはムコイドは不染といわれている²⁹⁾ので、一部分ムチカルミン染色にて検討したが、PAS反応との間に大きな差異はみられなかつた。

一般的には胃液成分である塩酸と粘液との関係は、Glass & Boyd⁶⁰⁾のいう如くに塩酸分泌が増加するにつれて粘液分泌も増加し、大井⁶¹⁾、詹⁶²⁾は塩酸分泌とムコプロティンは正の相関々係があるとし、組織化学的に腺頸部主細胞の所見ともほぼ一致すると述べ、内田⁷³⁾はPAS反応にて腺頸部主細胞数、幽門腺面積値は塩酸分泌ともほぼ正の相関があるとし、秋山⁵³⁾も同様に酸度の高いものでは胃底腺、幽門腺、被覆上皮共にPAS量的区分高度ないし中等度のものが多いと述べている。

私のPAS反応とSDH-ase活性の成績と教室村井²⁵⁾のムコプロティンと塩酸分泌との関係は諸家の成績同

様にはほぼ一致しており、二重型バルーン使用による平等胃冷凍法においては、腺頸部迄の細胞機能の抑制効果が、標準型バルーン群より長期間、且、確実に認められた。

5. 胃冷凍法の迷走神経遮断効果

胃酸分泌状態を肉眼的に観察する方法は、近年胃切除範囲の決定、幽門洞の確認および迷走神経切断術の検討と共に種々試みられた。つまりヒスタミンによつて直接壁細胞を刺激して塩酸を分泌させ、塩酸分泌のない幽門洞をpHの差によつて識別しようとする方法であるが、Claude Bernald (1895) が prussian blue を用いて以来、横ら⁶⁴⁾、白鳥ら⁵⁵⁾ は congo red-carbowax を、番場⁵⁶⁾ は neutral red を、Moe⁷¹⁾ らは congo red, tropical browphenol blue, truidine blue, neutral red, lithmas paper, universal indicator paper を、山岸⁷⁵⁾ らは congo red, truidine blue, neutral red を用いた。山岸らは用いた3種類では congo red が一番優れていたと述べ、私の実験成績からも congo red 法が neutral red 法より塩酸分泌領域および分泌状態の識別が充分かつ確実であつた。

胃冷凍法における迷走神経遮断効果について Karcadag¹⁶⁾¹⁷⁾、Hubel¹⁸⁾、Doberneck¹⁹⁾等は、或る一定期間(2~3ヵ月)について認めているが、いずれもpH indicator method によつては検討していない。私の成績では、標準型バルーン群は2週後には主に胃前壁の壁細胞機能の抑制が著明であり、1ヵ月後には抑制範囲の減少がみられた。一方、二重型バルーン群では2週後の所見は、迷走神経両側切断群と類似し、5ヵ月後においても前後壁均等な塩酸分泌範囲の縮小が認められた。しかし、北²⁴⁾は二重型バルーン群では6ヵ月後まで壁細胞数が減少していると報告しているのに、迷走神経遮断効果を示しているとは速断出来ないが、Shapira⁷⁷⁾ は迷走神経の塩酸分泌におよぼす役割について、1) 迷走神経の末端よりアセチルコリンを遊離して、これを媒介として壁細胞に働きかける直接刺激作用、2) 幽門洞よりガストリンを遊離させて働きかける塩酸分泌の間接刺激作用、3) 壁細胞の塩酸分泌機構を補助的に強化する塩酸分泌の強化作用をあげており、さらに4) ペプシノーゲン分泌の刺激作用と5) 消化休止時分泌(夜間分泌)に関係すると述べている。そこで、胃冷凍法の迷走神経遮断効果について考察を加えてみると、胃冷凍による壁細胞数の減少²⁴⁾の他に、胃冷凍によつて前後両胃壁に分布する迷走神経終末が均等に冷凍され、刺激に対する興奮性が抑制された状

態になり両枝迷切例に類似した塩酸分泌状態を呈したものと考える。北²⁴⁾は冷凍6ヵ月後の組織学的所見でアウエルバッハ神経叢の退行変性を認め、且つ、著明な腺の萎縮と腺頸部の高度線維性増殖が認められるのにかかわらず、壁細胞個々は正常な形態をしているのも残存したと述べ、Orbeli⁷⁹⁾ は壁細胞の正常な分泌反応性の維持には迷走神経の関与が必要であつて、迷走神経切断はたとえ壁細胞構造が組織学的に正常でも塩酸分泌機構の興奮性の低下を招来するとし、この説明より考えると、胃冷凍による減酸は壁細胞数の減少ばかりでなく、迷走神経遮断効果によるところが大きい事が理解出来る。

胃液分泌に関与する幽門前庭部の役割は、1) ガストリンを産生して塩酸分泌を誘発し、2) 壁細胞分泌能の強化作用 (Smithwick Kriesel)⁸⁰⁾を行なう事であるが、胃冷凍が Marx²⁰⁾のいう如くに幽門洞にまで影響を与えているとするならば、Karcadag¹⁶⁾¹⁷⁾、Hubel¹⁸⁾、Doverneck¹⁹⁾ らが指適し、私も認めた迷走神経遮断効果とあいともない、Edward⁸²⁾、Smithwick⁸³⁾、Harkins⁸⁴⁾ らのいう幽門洞切除術と迷走神経切断術の合併術、いわゆる保存的胃切除術に類似した効果を持つ事になる。つまり胃冷凍法では、通例横隔膜下で行なう迷走神経切除術の際に生ずる post vagotomy syndrome と術後の gastric atony を生じないので、更に優れているともいえ、Burge⁷⁸⁾ らによつて提唱された胃枝のみ切断し、肝枝、腹腔枝を温存する選択的胃迷切術 (selective gastric vagotomy) に似ている。

以上の考察より胃冷凍法の胃底腺領域の壁細胞機能(塩酸分泌)の低下を検討すると、1) 壁細胞の直接障害、破壊消失、2) 壁細胞を直接刺激する迷走神経の遮断効果、3) 壁細胞機能を強化する迷走神経の遮断効果、4) 酸分泌を誘発するガストリン分泌の抑制、5) 幽門前庭部の壁細胞分泌能の強化作用の抑制、等があげられ、したがつて私の行なつている至適冷凍温度条件による胃底腺領域の平等冷凍法は、持続的な減酸効果を得るための必須条件となりうるもので、消化性潰瘍の治療法として、積極的な効果を認めるものと考えられる。

V. 結 語

胃冷凍法を組織化学的方法にて究明し、従来より使用されている標準型バルーン法と私の考案せる二重型バルーン法(平等冷凍法)とを比較検討し、更に、pH indicator method にて迷走神経遮断効果を両型バル

ーン法にて検討し次の結果を得た。

1. SDH-ase 活性の持続的な低下を生じ、且、胃壁損傷を招来せずに持続的な減酸効果を期待し得る胃漿膜温は1～5℃である。

2. 胃冷凍後の胃底腺領域のSDH-ase活性分布は、標準型では局所的に低下し、その陽性細胞数も不均等に減少したが、二重型ではほぼ均等な陽性細胞数の減少とSDH-ase活性の低下が6ヵ月後まで認められた。

3. 胃冷凍によつて生じた胃粘膜の萎縮性変化は、SDH-ase活性では原発性胃炎に類似した所見を呈し、過冷凍による冷凍潰瘍の際にも通常の胃潰瘍の場合と異なり、随伴性胃炎の活性所見を示さなかつた。

4. AcP-ase活性は、両バルーン群共に冷凍後早期(1ヵ月前後)に対照群の活性にもどつたが、二重型バルーン群では3ヵ月以降に再度活性の低下するものがあり、2群に分かれた。

5. PAS反応は、標準型、二重型バルーン群共に冷凍直後は一過性に増強したが、その後低下し、標準型では3ヵ月後には対照群の反応にもどり、二重型では6ヵ月後迄も胃底腺頸部細胞に反応の低下が認められた。

6. 胃粘膜の萎縮性変化により、SDH-ase活性、AcP-ase活性、PAS反応は低下した。

7. 腸上皮化生細胞は、SDH-ase、AcP-ase、PAS反応共に増強した。

8. pH indicator methodによる胃冷凍法の迷走神経遮断効果は、標準型バルーン群では迷走神経片側切断群に、二重型バルーン群では両側切断群に類似した所見を示した。

9. SDH-ase活性、AcP-ase活性、PAS反応並びにpH indicator methodの所見と胃液分泌(塩酸、ペプシン、ムコプロテイン)とは著しい相関々係を示した。

稿を終るにあたり、恩師金谷春之教授の御懇篤なる御指導、御校閲を深謝するとともに、終始御教示を下さつた大沢助教授をはじめ共同研究者並びに御協力下さつた教室の方々に心から謝意を表します。又、組織化学的な検討について御教示をいただいた本学第一病理学教室矢川寛一教授、高山和夫教授に謹んで謝意を表します。

本論文の一部は、第65、66回日本外科学会総会、第52、53回日本消化器病学会総会、第8、9回日本消化器病学会秋季大会、第27回日本臨床外科学会で発表し、第3回世界消化器病学会に於いて金谷教授によつて発表された。

文 献

1) Wangensteen, O. H., et al. : Achieving "physiological gastrectomy" by gastric freezing.

- J. A. M. A., **180** : 439, 1962.
- 2) Wangensteen, O. H., et al. Can physiological gastrectomy be achieved by gastric freezing? *Ann. Surg.*, **156** : 579, 1962.
- 3) Peter, et al. : Technique of gastric freezing in the treatment of duodenal ulcer. *J. A. M. A.*, **181** : 76, 1962.
- 4) Peter, E. T. et al. : Effect of profound gastric hypothermia (gastric freezing) upon various phases of gastric secretion. *Surg. Forum.*, **13** : 269, 1962.
- 5) Scott, H. W., et al. : Experimental and clinical appraisal of gastric freezing for duodenal ulcer. *Ann. Surg.*, **159** : 769, 1964.
- 6) Klotz, A. P., et al. : Clinical and laboratory experience with gastric freezing. *Gastroent.*, **47** : 747, 1964.
- 7) Artz, C. P., et al. : Clinical evaluation of gastric freezing for peptic ulcer. *Ann. Surg.*, **159** : 758, 1964.
- 8) Artz, C. P., et al. : Mucosal changes following gastric freezing. *Am. J. Surg.*, **107** : 277, 1964.
- 9) Lippman, H. N., et al. : Etiology and prevention of gross mucosal lesions seen after gastric freezing. *J. A. M. A.*, **187** : 265, 1964.
- 10) Bernstein, E. F., et al. : Rational and results of gastric freezing for peptic ulcer. *Am. J. Surg.*, **107** : 268, 1964.
- 11) White, R. R., et al. : Problems and complication of gastric freezing. *Ann. Surg.*, **159** : 765, 1964.
- 12) Blumgart, L. H., et al. : Experimental studies with gastric freezing. *Gastroent.*, **47** : 291, 1964.
- 13) Wangensteen, S. L. et al. : Gastric "Freezing" an initial clinical study. *Am. J. Med.*, **38** : 31, 1965.
- 14) Barner, H. B., et al. : Morphology of human stomach after therapeutic freezing. *Arch. Surg.*, **90** : 358, 1965.
- 15) McIntyre, J. A., et al. : Gastric secretory changes resulting from gastric hypothermia. *Brit. J. Surg.*, **53** : 439, 1966.
- 16) Karcadag, S., et al. : "Gastric Freezing" in peptic ulcer, an evaluation of 100 cases. *Ann. Int. Med.*, **61** : 645, 1964.
- 17) Kolig, G., et al. : Das frieren des Magens zur Behandlung des peptischen Geschwürs : eine therapeutische Möglichkeit? *Langenbecks Arch. Klin. Chir.* **309** : 133, 1965.
- 18) Hubel, K. A., et al. : The effects of gastric freezing on vitamin B₁₂ absorption, acid secretion, tissue morphology and serum enzymes. *Am. J. Dig. Dis.*, **9** : 319, 1964.
- 19) Doberneck, R. C., et al. : Quantitation of morphologic changes in canine stomach after gastric freezing. *Arch. Surg.*, **91** : 575, 1965.
- 20) Marx, F. W. J. et al. : Hemorrhagic necrosis following gastric freezing. *Surg. Gynec.*

- Obstet., **119** : 1276, 1964.
- 21) 金谷春之, 他: 胃冷凍法に関する研究. 特に冷凍温度限界と平等冷凍法について. 最新医学, **21** : 1392, 1966.
 - 22) 金谷春之, 他: 消化性潰瘍の成因的因子よりみた胃冷凍法の効果に関する実験的考察. 外科, **31** : 11, 1969.
 - 23) Kanaya, H., et al. : Experimental and clinical studies of gastric even freezing by the double balloon for gastric and duodenal ulcers. Recent advances in gastroenterology. The proceedings of the 3rd world congress of gastroent., **1** : 649, 1967.
 - 24) 北 良彦: 胃冷凍法に関する実験的研究. 特に壁細胞数の推移よりみた胃壁の至適温度条件と胃底腺領域の平等冷凍法について. 日外宝, **36** : 443, 1967.
 - 25) 村井英之: 胃冷凍法における胃液分泌に関する実験的, 臨床的研究. 日外宝, **37** : 673, 1969.
 - 26) 杉村 正: 壁細胞を中心とする残胃の組織学的変化と実験的術後空腸潰瘍との関係. 慈医大誌, **67** : 29, 昭和28.
 - 27) Lison, L. 組織化学および細胞化学(和訳). 白水社, 東京, 増訂版, p.487, 1962.
 - 28) Pearse, G. E. Histochemistry, theoretical and applied, Churchill, London, 215, 1953.
 - 29) 岡本耕造, 他: 顕微鏡的組織化学. 医学書院, 東京, 第3版, 1965.
 - 30) 三好秋馬: 分泌機能面よりみた慢性胃炎. 日本臨床, **22** : 1916, 1964.
 - 31) Padykula, H. A. : The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. Am. J. Anat., **91** : 107, 1952.
 - 32) Villarreal, R. et al. : A correlated biochemical and histochemical study of succinic dehydrogenase activity in the gastric mucosa of the rat and frog. J. Cell. Comp. Phys., **46** : 327, 1955.
 - 33) Vitale, J. J., et al. : Succinic acid and malic oxidase in gastric hydrochloric acid production. Am. J. Physiol., **187** : 427, 1956.
 - 34) 吉利 和, 他: 胃粘膜の酵素化学. 最新医学, **20** : 3039, 1965.
 - 35) Schnitka, T. K. : Enzymatic histochemistry of gastrointestinal mucous membrane. Federation proceedings, **19** : 897, 1964.
 - 36) Hally, A. D. : The fine structure of the gastric parietal cell in the mouse. J. Anat., **93** : 217, 1959.
 - 37) Davenport, H. W. et al. : Succinoxidase and gastric acid secretion. Am. J. Physiol., **187** : 227, 1956.
 - 38) Telkka, A. et al. : Experimental studies of the histochemically demonstrable succinic dehydrogenase activity of gastric mucosa. Ann. Med. Intern. Fenn., **44** : 157, 1955.
 - 39) Rutenburg, A. M. et al. : Comparative distribution of succinic dehydrogenase in six mammals and modification in the histochemical technic. J. Histochem. & Cytochem., **1** : 66, 1953.
 - 40) Nachlas, M. M. et al. : A histochemical method for the demonstration of diphosphopyrinate nucleotide diaphorase. J. Biophys. & Biochem. Cytol., **4** : 29, 169, 467, 1958.
 - 41) 市川 収: 生体内脱水素反応の解析. 細胞化学シンポジウム, **4** : 113, 1956.
 - 42) Gomori, G. : Histochemical studies of the gastrointestinal mucosa. J. Nat. Cancer Inst., **13** : 1039, 1952.
 - 43) Correia, J. P. et al. : Histochemistry of the gastric mucosa. Gut., **4** : 68, 1963.
 - 44) Planteydt, H. T. et al. : Enzyme histochemistry of the human stomach, with special reference to intestinal metaplasia. J. Path. Bact., **80** : 316, 1960.
 - 45) 脇坂行一, 他: 胃粘膜の組織化学的研究. 日消会誌, **60** : 714, 1963.
 - 46) 中村孝司: 消化管粘膜の酵素学的研究. 日消会誌, **64** : 156, 1967.
 - 47) Reiner, L. et al. : Acid phosphatase activity in human neoplasms. Cancer., **10** : 563, 1957.
 - 48) Roseman, D. M. et al. : The concentration and distribution of acid phosphatase in the human stomach, with particular reference to gastric carcinoma. Gastroent., **36** : 589, 1959.
 - 49) Gomori, G. : Stain technol., **25** : 81, 1950. (29より引用)
 - 50) McManus, J. F. A. : stain technol., **23** : 99, 1948. (29より引用)
 - 51) Mayer, P. : Mitt. Zoll. Stat. Neapel., **12** : 303, 1896. (29より引用)
 - 52) Southgate, H. W. : J. Path. & Bact., **30** : 729, 1927. (29より引用)
 - 53) 秋山義明: 疾患胃粘膜の粘液染色を中心とした病理組織学的研究と組織呼吸並びにコハク酸脱水素酵素活性との相関に関する研究. 慈医誌, **76** : 1045, 1960.
 - 54) 横 哲夫, 他: 胃良性疾患に対する切除法についての検討. 外科治療, **13** : 505, 1965.
 - 55) 白鳥常男, 他: 胃酸分泌領域におよぼす迷走神経支配の影響. 日平滑筋誌, **1** : 223, 1965.
 - 56) 番場道夫: 消化性潰瘍に対する“保存的”胃切術に関する臨床的, 実験的研究. 日外会誌, **67** : 253, 1965.
 - 57) Gomori, G. : Histochem. Cytochem. **4** : 453, 1956. (46より引用)
 - 58) Langr, F. et al. : Die Aktivität der Esterase, der alkalischen Phosphatase und Amino-peptidase in der Magenschleimhaut bei einigen präkanzerösen Zuständen. Gastroent. **104** : 213, 1965.
 - 59) 松峯敬夫: 正常および萎縮性胃粘膜におけるアルカリ性ならびに酸性フォスファターゼに関する研究—特に化生腸上皮について—. 日消会誌, **64** : 365, 1967.
 - 60) Glass, G. B. J. : The three main components of the human gastric mucin: dissolved mucoprotease, dissolved mucoprotein, and mu-

- coid of the gastric visible mucus. *Gastroent.*, **12** : 821, 1949.
- 61) 大井 実 : 胃潰瘍症. 南江堂, 東京, 1957.
- 62) 熊 自守 : 人胃の非壁細胞性分泌. 特に溶腫粘液に関する研究. *慈医誌*, **71** : 7, 1956.
- 63) 高野 洋 : 諸種胃疾患における胃液内可視性粘液について. *慈医誌*, **73** : 10, 1958.
- 64) 小野和典 : 外科的胃疾患患者の胃液ムチンについて. *熊本医誌*, **32** : 4, 1958.
- 65) Meyer, K. : Mucoids and glycoproteins, in advances in protein chemistry. II, 249, Academic Press, New York, 1945.
- 66) 渡辺洋三 : 胃冷凍法に関する研究. *日外会誌*, **69** : 139, 1968.
- 67) 山崎忠光 : 胃冷凍法の実験的研究. 特に胃壁の組織学的電顕的变化について. *日外会誌*, **69** : 1722, 1968.
- 68) 高瀬武平 : 慢性胃炎の組織化学的検査. *最新医学*, **11** : 323, 1956.
- 69) Ragins, H. et al. : Variations of the cellular distribution of acid phosphatase in canine gastric mucosa with a comparison of the lead sulfide and azo dye methods. *Gastroent.*, **36** : 589, 1959.
- 70) Madden, et al. : Acid & alkaline phosphatase activity in the human stomach. *Gastroent.*, **32** : 1113, 1957.
- 71) Magnus, H. A. A. : Observation on the presence of intestinal epithelium in the gastric mucosa. *J. Path. Bact.*, **44** : 398, 1937. (34より引用)
- 72) Guiss, L. W. et al. : Chronic atrophic gastritis and cancer. *Arch. Surg.*, **46** : 823, 1943.
- 73) 内田俊二 : 外科的胃疾患切除胃粘膜の組織化学的研究. 特にPAS染色について. *熊本医誌*, **33** : 7, 1959.
- 74) Moe, R.E. et al. : Demonstration of the functional anatomy of the canine gastric antrum. I. Operative technics requiring gastrotomy. *Am. J. Surg.*, **110** : 277, 1965.
- 75) 山岸三木雄, 他 : 胃, 十二指腸潰瘍に対する胃切除範囲の検討 — ことに小範囲切除術について — 外科, **29** : 552, 1967.
- 76) 堺 哲道, 他 : 消化性潰瘍に対する“保存的胃切除術”. 外科, **24** : 1463, 1962.
- 77) Schapira, D. : Vagal influences in gastric secretion. *Ann. New York Acad. Sci.*, **99** : 58, 1962.
- 78) Burge, H. W. et al. : Selective vagotomy in the prevention of postvagotomy diarrhoea. *Lancet*, **2** : 897, 1961.
- 79) Orbeli, L. A. : On the activity of the peptic glands before and after vagotomy. *Arch. Sci. Biol. St. Petersburg*, **12** : 71, 1907. (55より引用)
- 80) Smithwick, R. H. et al. : *Rev. Gastroent.*, **17** : 439, 1950. (75より引用)
- 81) 北 良彦, 他 : 胃冷凍法に関する実験的研究. 特に胃壁の温度条件と壁細胞数の推移について. *日消会誌*, **63** : 75, 1966.
- 82) Edwards, L. W. et al. : Efficacy of 40% gastrectomy combined with vagotomy for duodenal ulcer. *Surg.*, **41** : 346, 1957.
- 83) Smithwick, R. H. et al. : Some comments on recurrent ulceration after various operations for duodenal ulcer based upon the acidity and peptic activity of the gastric contents. *Rev. Gastrent.*, **17** : 375, 1963.
- 84) Harkins, H. N. et al. : A combined physiologic operation for peptic ulcer (partial distal gastrectomy, vagotomy, and gastroduodenostomy). *West. J. Surg.*, **61** : 316, 1953.
- 85) Hunt, J. N., et al. : An interpretation of the histamine test of gastric secretion. *Gastroent.*, **16** : 231, 1950.