

実験的 Cysteamine 十二指腸潰瘍における粘膜防御因子 からみたセクレチンおよび VIP 投与の影響

山口大学医学部外科学教室第2講座（指導：石上浩一教授）

城 野 憲 史

〔原稿受付：昭和61年3月17日〕

Effect of Secretin and Vasoactive Intestinal Polypeptide on Mucosal Defensive Factors in Cysteamine- Induced Duodenal Ulcer

NORIFUMI JOHNO

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

Effect of secretin and VIP on mucosal defensive factors, especially on mucosal blood flow and the Brunner's gland was investigated in cysteamine-induced duodenal ulcer.

The results were as follows:

- (1) The duodenal mucosal blood flow decreased after the administration of cysteamine. Secretin or VIP was continuously infused into the right cervical vein 10 minutes before the administration of cysteamine at the dose of 15 u/kg/hr and 1 μ g/kg/hr, respectively. The decrease of the duodenal mucosal blood flow was significantly inhibited. Both secretin and VIP prevented cysteamine-induced duodenal ulcer.
- (2) Healing process of cysteamine-induced duodenal ulcer was studied using anti Bromodeoxyuridine monoclonal antibody, especially from the viewpoint of cellular kinetics of the Brunner's gland. At the early stage of healing process, cell proliferation of the duodenal mucosa at the margin of the ulcer was activated, as indicated by increased labelled cells of the crypts. And labelled cells remarkably increased in the Brunner's glands.

Secretin activated cell proliferation of the Brunner's gland at the early stage of the healing process of the ulcer. And secretin showed significant repairing effect on the cysteamine-induced duodenal ulcer.

Key words: Cysteamine-induced duodenal ulcer, Secretin, Vasoactive intestinal polypeptide, Mucosal blood flow, Brunner's gland.

索引語：システアミン十二指腸潰瘍，セクレチン，VIP，粘膜血流量，ブルンナー腺。

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

はじめに

消化性潰瘍は攻撃因子と粘膜防御因子との平衡状態のアンバランスにより発生するとされている。胃潰瘍については、Davenport³⁾ の “ H^+ back diffusion theory” や Hollander¹²⁾ の “Two component theory” などの攻撃および防御因子の平衡状態の失調について、数多くの研究がなされている。

十二指腸潰瘍については、Selye & Szabo³⁰⁾ が cysteamine 投与によって十二指腸潰瘍の発生をみることを報告して以来、主として攻撃因子である酸およびペプシンの分泌亢進が論点の中心であった。

しかしながら、近年、十二指腸粘膜防御因子である十二指腸粘膜血流や Brunner 腺に対する cysteamine の影響が注目されつつある。また、さらに防御因子を調節する消化管ホルモンとしては、腸液分泌刺激作用をもつセクレチンをはじめ、Vasoactive intestinal polypeptide (VIP), somatostatin が挙げられている。

この研究で、著者は cysteamine 十二指腸潰瘍の発生および治癒過程において、十二指腸粘膜血流量ならびに Brunner 腺の再生におよぼすセクレチンおよび VIP の影響について検討した。

実験方法

1. 実験の対象と cysteamine 投与法

体重 180~300 g の Wister 系雄性ラットに水のみを与えて24時間絶食後、cysteamine-HCl (和光純薬工業) 400 mg を生理食塩水 (生食水) 3 ml に溶解して、400 mg/kg の割合で、ラットの背部に皮下注射した。なお、麻酔を要する実験にはエーテルおよびペントバルビタール (50 mg/kg i.p.) を用いた。

2. 血中ホルモンの測定と組織学的検索

体重 180~230 g のラット25匹を cysteamine 投与前と投与後それぞれ 1.5, 3, 6 および 12 時間目の5群にわけ、各群の下大静脈より採血し、胃十二指腸を摘出した。採取した血液は、Trasyol・EDTA を添加した水冷した小試験管にいれ遠心分離し、測定まで -20°C に保存した。

ガストリンは Dinabot 社のガストリンリアキット II, セクレチンは第1アイストープ社のセクレチンキット、そして VIP は Dinabot 社の VIP キットを用いて測定した。

また、摘出した胃十二指腸は、99%エタノールによって固定後、Hematoxylin-Eosin, PAS-Alcian blue (pH

2.5) 染色を行って組織学的変化を検討した。

3. セクレチンおよび VIP の抗潰瘍作用

体重 180~230 g のラットの右頸静脈よりカニュレーションをして、cysteamine 投与前より 2 ml/hr の輸液速度で、生食水に溶解したセクレチン (エーザイ製薬, Secrepan) または VIP (porcine, PENINSULA LABORATORIES, INC.) の投与を開始した。cysteamine 投与18時間後に胃十二指腸を摘出して実体顕微鏡 (Nikon, SMZ-10) 下で粘膜面を観察し、潰瘍およびびらんの有無を検索した。潰瘍およびびらは円形または楕円形であり、その長径及び短径を 1/10 mm スケールまで測定し、その積を潰瘍指数 ulcer index (U.I.) とした³⁴⁾。

セクレチンは10および 20 sec $\cdot$ u/kg/hr, VIP は 0.5, 1 および 2 μ g/kg/hr の割合で投与した。なお対照としては生食水のみを同様に輸液した。

4. Cysteamine 投与による十二指腸血流低下におよぼすセクレチンおよび VIP の影響

(1) 十二指腸粘膜血流量の測定法

血流量の測定には水素ガス・クリアランス式組織血流計 (Unique Medical Co. Ltd. PHG-201) を用いた。体重 250~300 g のラット18匹を開腹し、ワイヤ型白金電極 (UHE-201) を幽門輪より約 5 mm 肛門側の十二指腸前壁粘膜下層に刺入固定し、不関電極 (UHE-001) を下腹部皮下に埋没した。経時的に水素ガス (200 ml/min) を吸入させ、得られたクリアランス曲線より十二指腸粘膜血流量を算出した¹⁾。

(2) 基礎血流量

ペントバルビタール麻酔下のラット3匹の血流量を2回測定し、その安定性を確認後、生食水を 1 ml 皮下投与し、その5, 15, 30および60分後に血流量を測定した。なお生食水皮下投与10分前より頸静脈から生食水を持続投与 (2 ml/hr) した。

(3) セクレチンおよび VIP の投与法

セクレチン 15 sec $\cdot$ u/kg/hr あるいは、VIP 1 μ g/kg/hr を Cysteamine 投与10分前より持続的に投与し(2)と同様に経時的に血流量を測定した。対照群としては生食水のみを投与した。

5. 潰瘍治癒とセクレチン

Cysteamine を投与したラット154匹のうち、投与48時間後に生存を確認した109匹を正中切開で開腹し、十二指腸を漿膜面より観察した。ここで肝臓に穿通あるいは穿孔寸前の ul IV の潰瘍の発生をみたラット57匹を開腹後、実験に供した。そしてセクレチン 30 sec

u/kg を午前9時、午後5時の1日2回、連日筋注投与群と生食水のみ同様に投与した対照群との2群に分け、潰瘍治癒過程におけるセクレチン投与の影響を検討した。セクレチンあるいは生食水の投与前、投与後2, 4, 7, 14, 及び28日後午前9時に Bromodeoxyuridine (BrdU) 20 mg/kg を腹腔内投与し³³⁾、1時間後にラットを屠殺し、胃十二指腸を摘出した。

(1) 潰瘍指数

摘出した胃十二指腸を大彎にそって切開し、潰瘍指数 (U.I.) を測定した。

(2) 組織化学的検索

十二指腸を99%エタノールで固定し、パラフィン包埋し、4 μ の厚さに連続切片を作成し、PAS-Alcian blue (pH 2.5) 染色を施した。

(3) 抗 BrdU モノクロナール抗体を用いた細胞動態学的検索

Gratzner³⁾ により開発された BrdU に対するモノクロナール抗体を用いて、十二指腸潰瘍治癒過程における十二指腸粘膜の陰窩および Brunner 腺の細胞動態学的検討を行った。

a) 原理と方法

BrdU は DNA を合成する thymidine の analogue であり、DNA 合成期(S期)にある細胞では核 DNA 内に取り込まれる。そして、抗 BrdU モノクロナール抗体を反応させることにより、免疫組織学的にS期にある細胞、すなわち標識細胞を明瞭に同定できる²³⁾。

ここでは avidine-biotin-peroxydase complex (ABC) 法をもちいた。(2)において作成した連続切片を脱パラフィンし、内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害するため、0.3% H_2O_2 加メタノールで30分室温中にて処理した。4NHCl で20分処理し、0.05M $Na_2B_4O_7$ で中和し、非特異的反応を防ぐために正常血清で処理した。

一次抗体として PBS(pH 7.2) で400倍に希釈した抗 BrdU (Becton-Dickinson 社) を用いて、室温で1時間反応させた。二次抗体は200倍に希釈したビオチン化抗マウス抗体 (Vector 社) を用いて、30分間室温で反応させた。ABC (Vector 社) に30分間作用させ、3,3'-diamino benzidine-tetrahydrochloride (DAB) 反応によって発色させた。水洗後、後染色として Hematoxylin 染色を行った。

b) labeling index (L.I.)

布施ら⁷⁾ の方法にしたがい、潰瘍辺縁の10陰窩につき陰窩底より標識されている最上端までの細胞のレベルを増殖細胞帯として、その中に占める標識細胞の割合 labeling index (L.I.) を求めた。

また、Brunner 腺については、潰瘍の先進部ではその再生上皮と Brunner 腺との判別が困難であるため、その周辺部の Brunner 腺細胞を1000個測定し、L.I. を求めた。

6. 統計処理⁶⁾

平均値の比較には分散分析および Student's t-test を用いた。SE は標準誤差をあらわし、n は標本数をあらわした。なお有意水準は5%にとった。

実験結果

1. Cysteamine 投与後の血中ホルモンの変動

ガストリン、セクレチンおよび VIP の測定値を表1に示した。血中ガストリンは cysteamine 投与後1.5 および3時間目には投与前に比べて有意の上昇を示した ($p < 0.01$)。

セクレチンおよび VIP については有意の変化を認めなかった。

2. Cysteamine 投与後の組織化学的变化

図1に示すように cysteamine 投与前においては

表1. Cysteamine 投与後の血中ホルモンの変動 (pg/ml) (n=5)

経過 時間 (時間)	ガストリン		セクレチン		VIP	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
投与前	111	15.5	98	11.8	9	2.8
1.5	375***	65.0	103	8.2	5	0.2
3	271***	27.6	155	43.2	11	2.4
6	185	32.7	191	27.5	30	2.4
12	242	26.2	180	44.2	14	2.5

***: $p < 0.01$

** : $p < 0.05$ VS. Cysteamine 投与前

* : $p < 0.10$

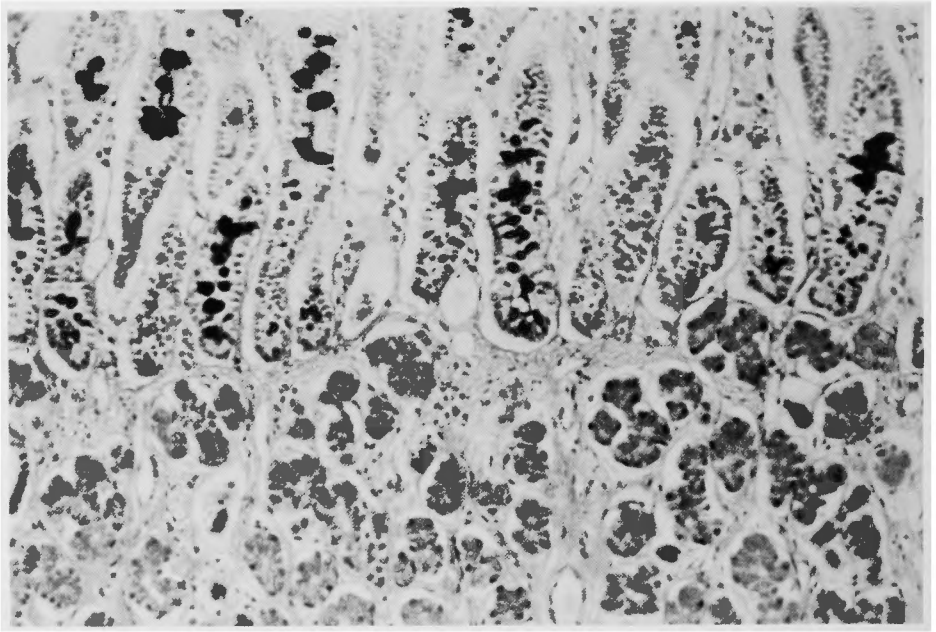


図 1A PAS-Alcian blue 染色 (×100)
正常ラット十二指腸：陰窩の杯細胞および Brunner 腺の染色性は良好である。

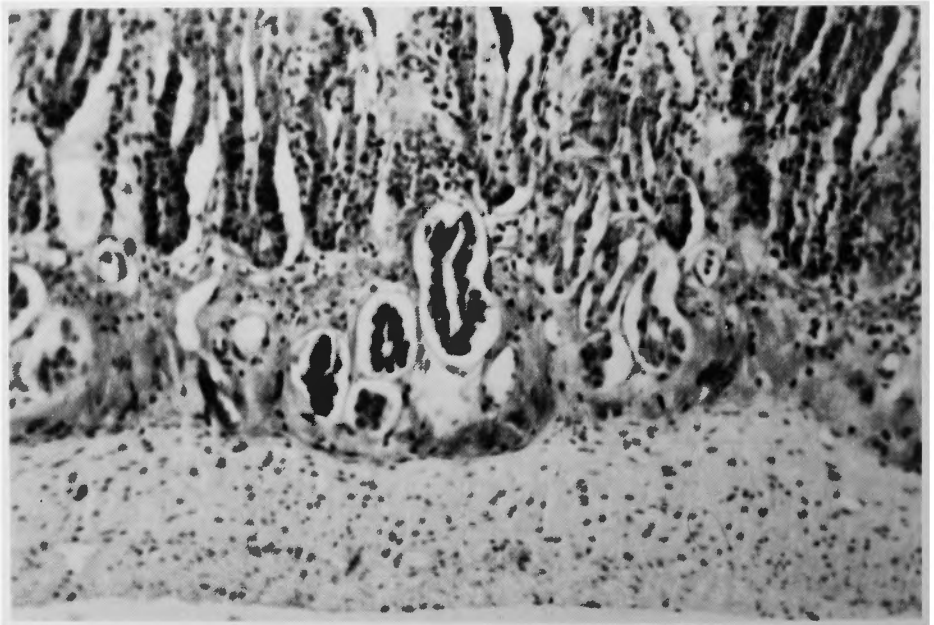


図 1B PAS-Alcian blue 染色 (×100)
Cysteamine 投与12時間後のラット十二指腸：陰窩の杯細胞の染色性は低下し、
Brunner 腺の細胞は扁平化し、腺腔の拡大も著明であった。

表2. Cysteamine 投与後の十二指腸粘膜血流におよぼすセクレチン, VIP の影響 (ml/100g/min)

		経 過 時 間				
		基礎量	5	15	30	60
Cysteamine (-) (n=3)	Mean	114.5	101.6	108.1	103.6	108.0
	SE	2.25	4.27	4.08	8.95	5.38
Cysteamine (+) (n=5)	Mean	125.0	76.7	81.8	71.9	56.5
	SE	6.56	6.87	7.94	5.13	2.98
Cysteamine (+) +セクレチン (n=5)	Mean	114.1	100.7	99.9	95.1	86.1
	SE	5.69	3.78	6.40	8.59	5.69
Cysteamine (+) +VIP (n=5)	Mean	118.2	98.8	103.7	88.6	87.9
	SE	5.02	5.45	6.92	1.74	3.26

Cysteamine (+) VS Cysteamine (+)+セクレチン, $p<0.01$
Cysteamine (+) VS Cysteamine (+)+VIP, $p<0.01$

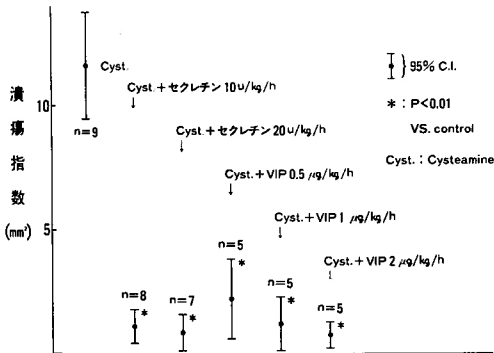


図2 潰瘍指数におよぼすセクレチン, VIP の影響

PAS-Alcian blue 染色で陰窩の杯細胞および Brunner 腺の染色性は良好であった (図1A)。

Cysteamine 投与後1.5時間後にはほとんど変化を認めなかったが, 3時間目より Brunner 腺の PAS 染色

性が低下しはじめ, 6時間目より陰窩の崩壊を認め, 粘膜固有層に炎症細胞が出現し, Brunner 腺の PAS 染色性は低下し, 一部腺腔の拡張を認めた。12時間目には陰窩の杯細胞の染色性は低下し, Brunner 腺は扁平化し, 腺腔の拡張は著明であった (図1B)。

3. セクレチンおよび VIP の抗潰瘍作用

図2に示すようにセクレチンおよびVIPによりcysteamine 投与による潰瘍形成が抑制された ($p<0.01$)。

4. 粘膜血流量

表2および図3に結果を示した。ペントバルビタール麻酔下において, ラットの十二指腸粘膜血流量は実験中有意的変化を示さず, 安定していた。Cysteamine 投与により粘膜血流量は明らかに低下し ($p<0.01$), cysteamine 投与60分後には cysteamine 投与前値の $46\pm2.9\%$ に低下した。セクレチンまたはVIP投与によって cysteamine 投与による血流低下が有意に抑制

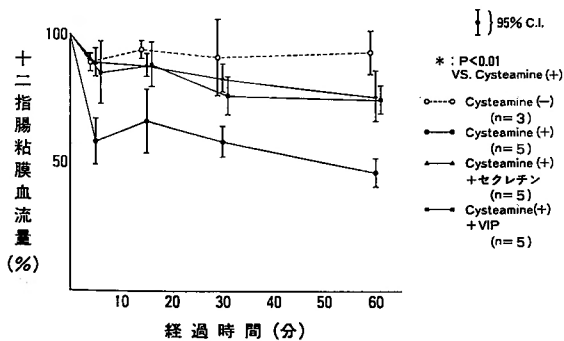


図3 Cysteamine 投与後の十二指腸粘膜血流におよぼすセクレチン, VIP の影響 (%)

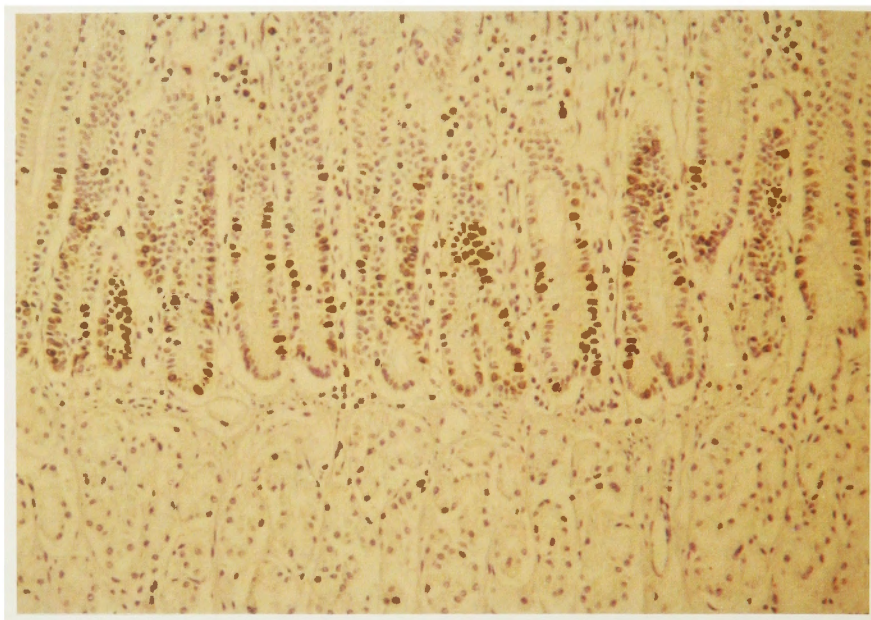


図4 免疫染色 (×100)

正常ラット十二指腸：陰窩の細胞増殖帯の L.I. は $29.8 \pm 0.44\%$ ，Brunner 腺の L.I. は $0.3 \pm 0.05\%$ である。

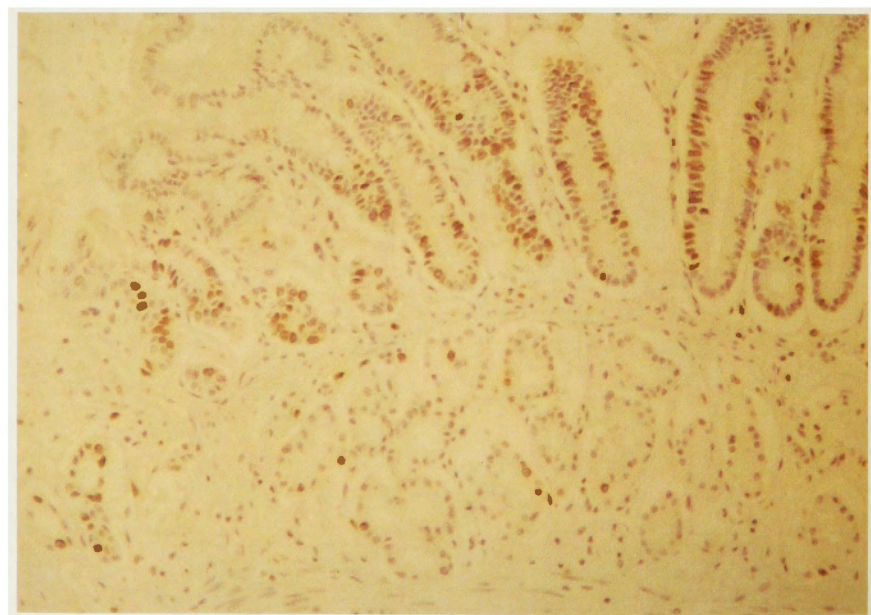


図5 免疫染色 (×100)

Cysteamine 投与48時間後（セクレチン投与前）のラット十二指腸：陰窩の細胞増殖帯の L.I. は $37.5 \pm 1.05\%$ ，Brunner 腺の L.I. は $6.1 \pm 0.86\%$ と共に正常ラットと比べて著明に増大している。

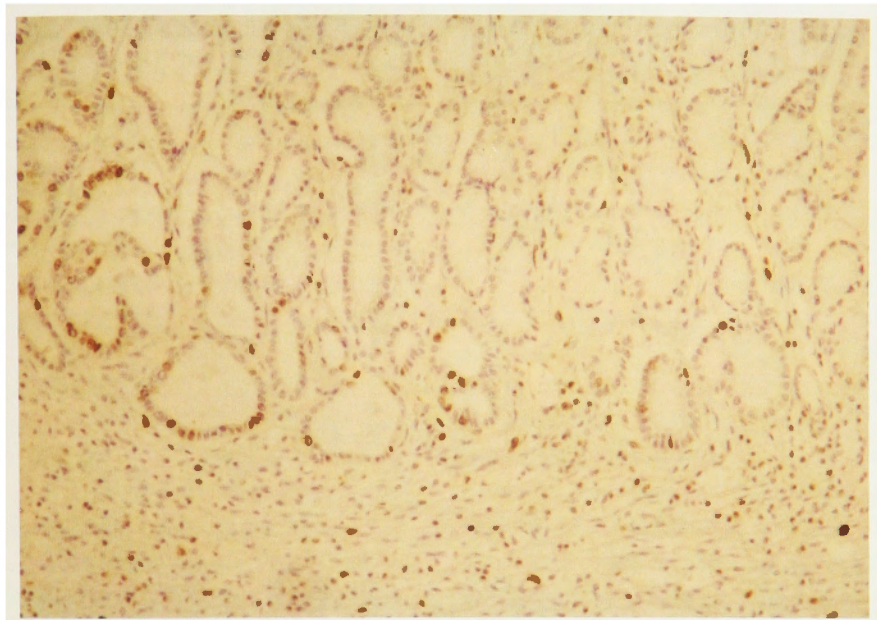


図 6A 免疫染色 (×200)
生食水 2 日間投与後 (コントロール)

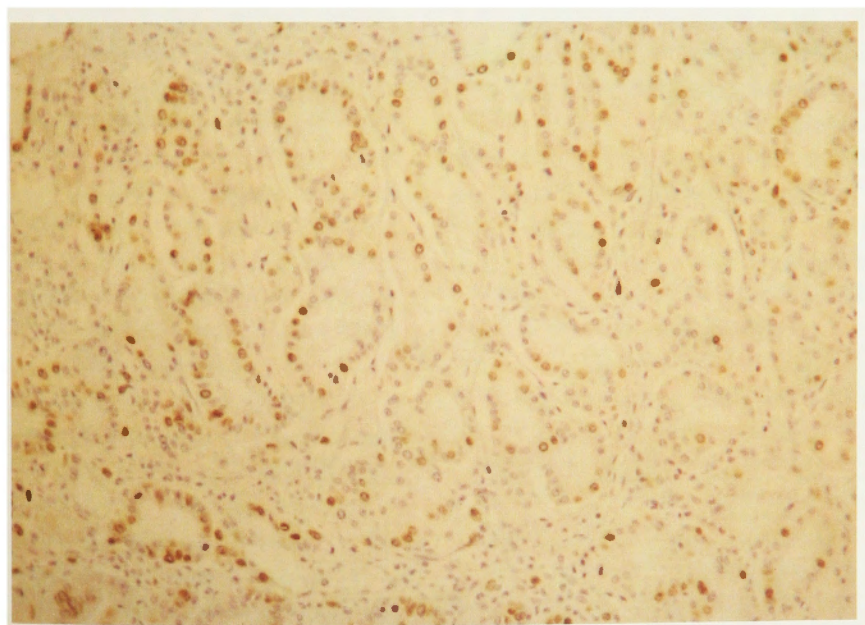


図 6B 免疫染色 (×200)
セクレチン 2 日間投与後
セクレチン投与により Brunner 腺の L.I. が有意に増大する ($p < 0.01$).

表3. Cysteamine 潰瘍の治癒過程における潰瘍指数 U.I. におよぼすセクレチンの影響 (mm²)

投与 日数 (日)	n	コントロール		セクレチン	
		Mean	SE	Mean	SE
投与前	7	19.1	3.29	19.1	3.29
2	5	17.8	4.63	18.9	4.69
4	5	12.4	3.10	11.8	2.90
7	5	4.8	1.53	3.5	0.46
14	5	3.7	0.85	0.6**	0.27
28	5	1.1	0.92	0.1	0.04

*** : p<0.01
** : p<0.05
* : p<0.10

された (p<0.01). セクレチン投与群と VIP 投与群の間には有意差を認めなかった。

5. 潰瘍治癒過程における潰瘍指数とセクレチン

Cysteamine 投与後 ul IV の十二指腸潰瘍の発生をみたのは154匹中57匹で、37.0%の発生率であった。また、死亡率は154匹中45匹で、29.2%であった。表3に潰瘍指数におよぼすセクレチンの影響を示す。セクレチンを14日間連続投与することによって、コントロール群に比べて有意に潰瘍治癒が促進された (p<0.05)。

6. 組織化学的検索および細胞動態学的検索

a) 無処置ラット

十二指腸粘膜陰窩の杯細胞の PAS-Alcian blue 染色による重染色性は良好で、また粘膜下 Brunner 腺には PAS 陽性の粘液を多量に認めた。陰窩の細胞増殖帯の labeling index (L.I.) は29.8±0.44%, また Brunner 腺の L.I. は0.3±0.05%であった (図4)。

b) Cysteamine 投与ラット

表4. Cysteamine 潰瘍の治癒過程における十二指腸粘膜の陰窩増殖帯の標識率 L.I. におよぼすセクレチンの影響 (%)

投与 日数 (日)	n	コントロール		セクレチン	
		Mean	SE	Mean	SE
投与前	7	37.5	1.05	37.5	1.05
2	5	40.3	1.66	39.9	1.24
4	5	33.6	0.83	31.9	0.64
7	5	31.2	0.67	31.4	0.64
14	5	32.0	0.66	31.8	1.30
28	5	32.5	0.52	30.6	0.80

表5. Cysteamine 潰瘍の治癒過程における Brunner 腺の標識率 L.I. におよぼすセクレチンの影響 (%)

投与 日数 (日)	n	コントロール		セクレチン	
		Mean	SE	Mean	SE
投与前	7	6.1	0.86	6.1	0.86
2	5	7.7	1.28	15.6***	2.42
4	5	1.9	0.44	4.4*	0.40
7	5	1.3	0.06	0.9	0.13
14	5	0.8	0.08	0.9	0.21
28	5	0.6	0.09	0.7	0.08

*** : p<0.01
** : p<0.05
* : p<0.10

Cysteamine 投与後の陰窩の細胞増殖帯および Brunner 腺の L.I. と、それぞれに対するセクレチン投与の影響を表4および表5に示す。cysteamine 投与48時間後において潰瘍表面には壊死物質を認めた。陰窩の杯細胞の染色性は低下し、Brunner 腺の腺細胞は扁平化し、PAS 陽性の粘液は著明に減少していた。潰瘍辺縁の陰窩の細胞増殖帯の L.I. は37.5±1.05%と著明に増大し、また Brunner 腺のそれも6.1±0.86%と無処置対照群に比べて約20倍増大していた (図5)。つぎにセクレチン投与による影響をみると、セクレチン2日間投与群と生食水のみ2日間投与したコントロール群において、粘液染色ではともに陰窩の杯細胞および Brunner 腺の染色性が著しく低下していた。陰窩の細胞増殖帯の L.I. は両群とも増大していたが、有意差は認めなかった。しかしながら Brunner 腺の L.I. はセクレチン投与によって有意に (p<0.01) 増大していた (図6)。

また、セクレチン4日投与群とコントロール群においても、陰窩および Brunner 腺の粘液染色と陰窩の細胞増殖帯の L.I. については、両群間で差を認めなかったが、Brunner 腺の L.I. はセクレチン投与によって有意に (p<0.1) 増大した。セクレチン投与7日以降では、陰窩の細胞増殖帯および Brunner 腺の L.I. はセクレチン投与の影響を認めなかった。

考 察

消化性潰瘍の発生において、Shay and Sun³¹⁾ は粘膜防御因子として、粘膜抵抗、粘液分泌、粘膜血流、duodenal brakeなどを挙げている。

十二指腸潰瘍については, cysteamine 十二指腸潰瘍がヒトでみられる十二指腸潰瘍に形態学および病態学的にみて近似していることより, cysteamine 投与後の十二指腸粘膜血流量や Brunner 腺の分泌能について検討がなされている。

十二指腸粘膜血流量は細胞回転の活性, 粘液の産生および分泌など, 粘膜防御機構全般に深く関与している。粘膜血流の低下は組織の虚血状態をおこし, 上記の粘膜防御因子の減弱, 破綻をまねくと考えられている。芳村ら³⁸⁾, 池田ら¹³⁾は cysteamine 投与後に十二指腸粘膜の血流量が低下することを確認し, セクレチンがこの血流低下作用を抑制することを認めている。この研究で, 著者はセクレチンのみならず, VIP も cysteamine 投与後の 粘膜血流の低下を抑制することを確認し, 十二指腸潰瘍発生に予防的効果があることを認めた。

セクレチンは, Grossman¹¹⁾ によって, そのアルカリ性腺分泌亢進作用と胃酸分泌抑制効果によって十二指腸潰瘍の治療に用いられるようになった。セクレチンの腸管の血流に及ぼす作用について, Gorden⁸⁾ や Fara ら⁹⁾ はネコにおいて, また中村ら²⁴⁾ はイヌにおいて, セクレチンの静脈内投与によって上腸間膜動脈の血流が増加することを確認している。

また脂肪, アミノ酸, あるいは酸を十二指腸腔内に注入することによって腸管の血流が増加し, 腸管壁の充血がおこるのは, 内因性セクレチンを介した作用であると考えられている¹⁾。次いで cysteamine 投与後の十二指腸の状態に関しては, cysteamine 投与により胃酸の分泌が促進されることが認められており^{15,27)}, 十二指腸腔内は多量の酸にさらされることになる。しかしながら, cysteamine 投与後には十二指腸内への塩酸刺激によって起こる内因性セクレチンの分泌反応が抑制されることが報告されている³⁷⁾。著者の実験においても cysteamine 投与後には血中セクレチンの上昇は認められず, 内因性セクレチンを介する血流増加作用も弱いと考えられる。セクレチンを投与することによって腸管の血流の増加がおこり, 結果的には cysteamine 投与による血流低下が抑制されることになると推測される。Said および Mutt によりブタの小腸粘膜より抽出された VIP は, その名の由来のように, 血圧を低下させ, 血流を増加させる作用をもっている^{28,36)}。消化管の血流については, 抗 VIP 血清と反応する神経線維が粘膜内の血管周囲に豊富に存在することが認められており, VIP 神経が粘膜血流を調節していると

考えられている²⁾。また, 経静脈的に VIP を投与することにより, 肝動脈や脾十二指腸動脈の血流が増加することが認められている³⁵⁾。したがって cysteamine 投与後の十二指腸粘膜血流量の低下が VIP 投与により抑制されたことは, VIP の血流増加作用によるためであると推測される。

さてここで VIP と胃酸分泌との関連についてみると, Schorr ら²⁹⁾ はイヌにおいて VIP が胃酸分泌を抑制することを報告している。一方, 森賀ら²²⁾ は VIP によって Gohsh-Shield ラットで, ガストリン刺激による胃酸およびペプシン分泌が増大することを認めており, 種属間の違いにより VIP の胃酸分泌におよぼす影響の違うことが推測されている。今回, VIP の cysteamine 投与後の胃酸分泌におよぼす影響については検討していないが, 仮に VIP が胃酸分泌を促進するとしても, VIP は粘膜血流を増加させることにより粘膜防御因子を増強し, 潰瘍の発生を抑制していると考えられる。

Brunner 腺は十二指腸起始部の粘膜下層に存在し, アルカリ性粘液を分泌し, 胃酸およびペプシンによる消化作用を中和することにより十二指腸の粘膜を防御する因子のひとつとなっている¹⁰⁾。Cysteamine を投与することにより Brunner 腺からの粘液および重炭酸イオンの分泌が減少することが Kirkegaard ら¹⁹⁾ によって報告されている。また, 組織学的にみると, cysteamine 投与後 Brunner 腺の PAS 陽性物質は減少し, 粘液は枯渇した状態となる。そして Brunner 腺の分泌能の低下が防御因子の減弱をきたす一因となっている。さて Brunner 腺の粘液分泌は自律神経および消化管ホルモンによって調節されている²⁰⁾。セクレチンと Brunner 腺との関係であるが, ラットにおいてセクレチンを経静脈的に投与すると, Brunner 腺からの重炭酸イオンの分泌が増大することが認められている^{14,18)}。また大江ら²⁵⁾ は Brunner 腺を含めた近位十二指腸粘膜からのアルカリ分泌は cysteamine 投与後に減少するが, セクレチンはこの減少を抑制することを認めている。

VIP については Brunner 腺周囲に VIP を含む神経が多数存在するのが確認されており⁵⁾。セクレチンと同様に Brunner 腺の重炭酸イオン分泌を増大させることが知られている^{14,17)}。したがって VIP の血流増加作用とあわせて考えると, cysteamine 投与時においても VIP が Brunner 腺よりの重炭酸イオン分泌を促進し, 潰瘍の発生を抑制するものと推測される。

以上のことよりセクレチンおよびVIPは、その血流増加作用とBrunner腺よりの重炭酸イオン分泌促進作用により、cysteamine投与による実験的十二指腸潰瘍の形成を抑制するものと考えられる。

次に十二指腸潰瘍治癒過程におけるセクレチン投与の影響であるが、セクレチンを14日間連続投与することにより潰瘍治癒の促進傾向が認められた。松尾ら²¹⁾は、ラットの胃に焼灼潰瘍を作成し、セクレチン10および20 u/kgを毎朝夕5日間投与し、潰瘍の治癒促進を認め、そしてそのことは、セクレチンの胃酸分泌抑制効果と血流増加作用によるものと推測している。

十二指腸潰瘍の治癒におよぼすVIPの影響については、VIPの血中喪失速度が速く、筋肉内投与ができず、長期間の観察が困難であるため、このたびの研究では検討しなかった。

さて布施ら⁷⁾は、³H-thymidine autoradiographyによりcysteamine十二指腸潰瘍治癒初期において、潰瘍辺縁の陰窩の増殖帯細胞の活性化のみならず、Brunner腺細胞の脱分化および増殖活性化がおこることを認めている。このたびの研究では、抗BrdUモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的手法によって細胞動態の検索を行ったが、布施らと同様に、潰瘍治癒初期において陰窩の増殖帯細胞およびBrunner腺細胞の増殖活性化がおこることを確認した。細胞動態におよぼすセクレチンの影響をみると、陰窩の増殖帯細胞にはセクレチン投与による影響は認めなかったが、Brunner腺の再生増殖能はセクレチンにより促進されることが確認された。したがってセクレチンはBrunner腺に対してtrophic effectをもっていると考えられる。

十二指腸におよぼすセクレチンの影響であるが、Johnsonら¹⁶⁾は、ガストリン刺激による粘膜内DNAおよびRNA合成促進をセクレチンが抑制することを確認しており、セクレチンは十二指腸粘膜に対してtrophic effectをもっていないといわれている。しかしながらPetersonら²⁶⁾は、セクレチンを15日間投与することによって近位側十二指腸の湿重量が有意に増加することを認めている。そして近位側十二指腸粘膜下にBrunner腺が豊富に存在することより、セクレチンがBrunner腺の過形成をもたらし、近位側十二指腸の湿重量を増加させると推論している。ここにおいて、セクレチンがBrunner腺の増殖能を促進するとは考えられないであろうか。この研究では、十二指腸潰瘍治癒初期というBrunner腺の再生増殖が活発となっている状態でのセクレチン投与の検討であり、

定常状態におけるBrunner腺におよぼすセクレチン投与の影響は検討していない。定常状態では、Brunner腺細胞はin situで数を増すrandom loss systemで再生が行われており、ほとんどの細胞は静止状態にあり、標識率は0.3%と低値を示すことが認められている⁷⁾。したがって定常状態においてセクレチン投与の影響を標識率によって比較することは困難であると考えられる。

Brunner腺と同様に重炭酸イオンを分泌する膵臓についてみると、Solomonら³²⁾はラットにセクレチンを2~5日間投与し、膵腺房細胞のDNA合成が促進され、セクレチンが膵腺房細胞に対してtrophic effectをもつことを報告している。したがって膵臓に関して、セクレチンは膵腺房細胞の分泌のみならず、増殖をも調節していることがわかる。そしてまたBrunner腺に関しても、セクレチンが重炭酸イオンの分泌を促進することが知られている。今回の実験成績からセクレチンが膵臓と同様に、Brunner腺の増殖をも調節していることが推測できる。十二指腸潰瘍の治癒過程におけるBrunner腺の役割について布施ら⁷⁾は、Brunner腺がアルカリ性の粘液を分泌する以外にBrunner腺が再生上皮に分化することを報告している。したがってセクレチンが十二指腸潰瘍の治癒過程においてBrunner腺の再生増殖を促すことは再生上皮形成を促進することになり、その結果として潰瘍治癒を促進することになると考えられる。

ま と め

Cysteamine十二指腸潰瘍の発生および治癒過程において、粘膜防御因子である十二指腸粘膜血流およびBrunner腺についてセクレチンまたはVIP投与の影響について検討を行い、以下の結果を得た。

1) Cysteamine投与により十二指腸粘膜血流量は低下するが、セクレチンあるいはVIPの投与により血流低下が有意に抑制され($p < 0.01$)、潰瘍の発生も有意に抑制された($p < 0.01$)。

2) Cysteamine十二指腸潰瘍の治癒過程を抗BrdUモノクローナル抗体を用いて細胞動態学的に検討を行った。そして治癒過程初期において潰瘍辺縁の陰窩の細胞増殖帯のみならず、Brunner腺も再生増殖が活性化していることを認め、さらにセクレチンを投与することにより、Brunner腺の再生増殖能がより活性化されることを明らかにした。

稿を終わるに臨み、御懇篤な御指導と御校閲を賜りました石上浩一教授に深く感謝の意を表するとともに、今回の研究に御協力いただいた教室諸兄に深謝します。また本研究を遂行するにあたり御助言いただいた山口大学病理学教室第2講座佐々木功典講師ならびに荻野哲朗助手に深謝します。

参 考 文 献

- 1) Aukland K, Bower BF, Berliner RW: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ Res* **14**: 164-187, 1964.
- 2) Costa M, Furness JB, Buffa R, et al: Distribution of enteric nerve cell bodies and axon showing immunoreactivity for vasoactive intestinal polypeptide in the guinea-pig intestine. *Neuroscience* **5**: 587-596, 1980.
- 3) Davenport HW: Gastric mucosal injury by fatty and acetylsalicylic acids. *Gastroenterol* **46**: 245-253, 1964.
- 4) Fara JW, Rubinstein EH, Sonnenschein RR: Intestinal hormones in mesenteric vasodilation after intraduodenal agents. *Am J Physiol* **223**: 1058-1067, 1972.
- 5) Ferri GL, Botti P, Rebecchi L, et al: VIP-, substance P- and met-enkephalin-immunoreactive innervation of the human gastroduodenal mucosa and Brunner's glands. *Gut* **25**: 948-952, 1984.
- 6) 福田治郎: 例解演習 応用統計入門, 初版, 東京, 日刊工業新聞社, 1962.
- 7) 布施好信: Brunner 腺の動態からみた十二指腸潰瘍の治癒過程に関する研究. *京府医大誌* **93**: 711-729, 1984.
- 8) Gordon R: Cardiovascular effect of secretin. *Am J Physiol* **218**: 1166-1170, 1970.
- 9) Gratzner HG: Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science* **218**: 474-475, 1982.
- 10) Griffith CA, Harkins HN: The role of Brunner's glands in the intrinsic resistance of the duodenum to acid-peptic digestion. *Ann Surg* **143**: 160-172, 1956.
- 11) Grossman MI: Treatment of duodenal ulcer with secretin: a speculative proposal. *Gastroenterol* **50**: 912-913, 1966.
- 12) Hollander F: The two-component mucous barrier. Its activity in protecting the gastroduodenal mucosa against peptic ulceration. *Arch Intern Med* **93**: 107-120, 1954.
- 13) 池田義毅, 北島政樹, 上田光久, 他: cysteamine 投与による実験的十二指腸潰瘍, 因に関する研究 (第一報). *日消誌* **78**: 2308-2315, 1981.
- 14) Isenberg JI, Wallin B, Johansson C, et al: Secretin, VIP, and PHI stimulate rat proximal duodenal surface epithelial bicarbonate secretion in vivo. *Regulatory Peptides* **8**: 315-320, 1984.
- 15) Ishii Y, Fujii Y, Homma M: Gastric acid stimulating action of cysteamine in the rat. *Eur J Pharmacol* **36**: 331-336, 1976.
- 16) Johnson LR, Guthrie PD: Secretin inhibition of gastrin stimulated deoxyribonucleic acid synthesis. *Gastroenterol* **67**: 601-606, 1974.
- 17) Kirkegaard P, Lundberg JM, Poulsen SS, et al: Vasoactive intestinal polypeptidergic nerves and Brunner's gland secretion in the rat. *Gastroenterol* **81**: 872-878, 1981.
- 18) Kirkegaard P, Olsen PS, Poulsen SS, et al: Effect of secretin and glucagon on Brunner's gland secretion in the rat. *Gut* **25**: 264-268, 1984.
- 19) Kirkegaard P, Poulsen SS, Halse C, et al: The effect of cysteamine on the Brunner gland secretion in the rat. *Scand J Gastroenterol* **16**: 93-96, 1981.
- 20) Lang IM, Tansy MF: Neural and hormonal control of Brunner's gland secretion. *Life Sci* **30**: 409-417, 1982.
- 21) 松尾 裕, 関 敦子, 石川 正: セクレチンの抗潰瘍作用の基礎的・臨床的研究. *ホルモンと臨床* **23**: 507-512, 1975.
- 22) 森賀本幸, 青野 充, 村上元庸, 他: VIP の作用, ネットの唾液, 胃液, 脾液および胆汁分泌に対する作用. *消化管ホルモンの進歩* 4, VIP. 東京, 中外医学社, 1976, p. 92-98.
- 23) Morstyn G, Hsu SM, Kinsella T, et al: Bromodeoxyuridine in tumors and chromosomes detected with a monoclonal antibody. *J Clin Invest* **72**: 1844-1850, 1983.
- 24) 中村欣一, 石井一嘉, 志賀知之, 他: イヌの胃血流量に対する Secretin の影響 (Tetragastrin と対比して). *脈管学* **10**: 147-152, 1970.
- 25) 大江慶治, 松本春樹, 藤原 卓他: ラット十二指腸によるアルカリ分泌に及ぼす secretin の影響. *消化管ホルモン(IV)*. 東京, 医学図書出版, 1984, p. 157-167.
- 26) Petersen H, Solomon T, Grossman MI: Effect of chronic pentagastrin, cholecystokinin, and secretin on pancreas of rats. *Am J Physiol* **234**: E286-E293, 1978.
- 27) Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, et al: Cysteamine-induced duodenal ulcers: a new model to test antiulcer agent. *Digestion* **11**: 199-214, 1974.
- 28) Said SI, Mutt V: Polypeptide with broad biological activity: Isolation from small intestine. *Science* **169**: 1217-1218, 1970.
- 29) Schoor BA, Said SI, Makhlof GM: Inhibition of gastric secretion by synthetic vasoactive intestinal peptide (VIP). *Clin Res* **22**: 23A, 1974.
- 30) Selye H, Szabo S: Experimental model for

- production of perforating duodenal ulcers by cysteamine in the rat. *Nature* **244**: 458-459, 1973.
- 31) Shay H, Sun DCH: Etiology and pathology of gastric and duodenal ulcer. In *Gastroenterology* edited by Bockus HL, 2nd ed, Vol 1, Philadelphia, W.B. Saunders, 1963, p. 420-465.
- 32) Solomon TE, Vanier M, Morisset J: Cell site and time course of DNA synthesis in pancreas after caerulein and secretin. *Am J Physiol* **245**: G99-G105, 1983.
- 33) 多田利彦, 児玉哲郎, 渡辺 昌, 他. BrdU (Bromodeoxyuridine) モノクロナール抗体を用いた細胞動態解析法の基礎的検討とその臨床応用. *医学のあゆみ* **135**: 510-513, 1984.
- 34) Takagi K, Okabe S, Saziki R: A new method for production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *Jpn J Pharmacol* **19**: 418-426, 1969.
- 35) Thulin L. Effect of gastro-intestinal polypeptides on hepatic bile flow and splanchnic circulation. *Acta Chir Scand Suppl* **411**: 1-31, 1973.
- 36) Ulrich FE: Klinische Bedeutung und Probleme der Enterohormone. *Z Gesamte Inn Med* **34**: 234-238, 1979.
- 37) 矢花 剛: 実験十二指腸潰瘍, Cysteamine 潰瘍の発生機序をめぐって. 十二指腸潰瘍研究, 第1集 成因と背景因子, Duodenal Club (編). 東京, 医学書院, 1982, p. 16-65.
- 38) 芳村 裕, 矢花 剛, 太田 傑, 他: システアミンのラット十二指腸粘膜血流低下作用に対する胃分泌抑制剤投与の影響. *医学のあゆみ* **119**: 18-20, 1981.