

総胆管結紮ラットに発生する拘束ストレス胃潰瘍： 胃嚢内に注入した試験液の電解質の変動について

岐阜大学医学部第2外科

大橋 広文 日野 輝夫 伊藤 善朗 土屋 十次
野々村 修 林 幸貴 坂田 一記

RAT STRESS ULCER, PATHOGENETICALLY RELATED TO JAUNDICE AND RESTRAINT: STUDIES ON ELECTROLYTE CHANGES IN SOLUTIONS INSTILLED IN RAT STOMACH

Hirofumi OHASHI, Teruo HINO, Yoshiaki ITO, Juji TSUCHIYA,
Osamu NONOMURA, Koki HAYASHI and Kazuki SAKATA
Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine

閉塞性黄疸ラットを使用して、拘束ストレス下に、1) 胃嚢内に試験液を注入、各電解質の net flux を測定、2) 水素ガスクリアランス法により胃粘膜血流量を測定、閉塞性黄疸にともなうストレス潰瘍発生の機序を検討した。閉塞性黄疸は各電解質の net flux に影響を与えなかった。cimetidine は H⁺ の分泌に大きな影響を与えるが、他の電解質分泌には小さな影響しか与えなかった。拘束ストレス下で、胃酸分泌能が維持される一方、胃粘膜血流量が低下することが、酸性液注入時発生する潰瘍の発生機序と考えられた。各電解質の net flux の結果を解釈し、何らかの法則性をみいだそうとする場合、neutralization-dilution と diffusion の両方の機序が働いていると考えると好都合であった。

索引用語：ストレス胃潰瘍、総胆管結紮、net flux、胃粘膜血流量、cimetidine

はじめに

閉塞性黄疸に伴う種々の合併症のうち、急性ストレス潰瘍発生による上部消化管出血は発生頻度が高く、かつまた、いったん発生すると、原疾患の重篤性と合わせて、不幸な転帰をとることが多い。この病態に関してはいまだ十分な説明がされておらず、基礎的研究が必要と考える。

今回、著者らはラットを使用して、総胆管を結紮切断し、閉塞性黄疸を作製した。この閉塞性黄疸ラットを使用して、拘束ストレス下に、1) 胃嚢内に試験液を注入、各電解質の net flux を測定、2) 水素ガスクリアランス法により胃粘膜血流量を測定、その結果を解析することにより、閉塞性黄疸にともなうストレス潰瘍発生の機序を検討した。

実験方法

Wistar 系雄性ラット (体重200~250g) を使用した。

1) 総胆管結紮ラット作製法

ether 麻酔下に上腹部正中切開を行い、総胆管を

large pancreatic duct と great pancreatic duct の間で2重結紮後切断した。術後は分離ケージに収容し、水道水と固型飼料 CE-2 (日本クレア K.K.: 東京) を用いて、1週間または3週間飼育した。無処置正常ラット (以後無処置ラット; 図表の一部では正常ラットと記す) を対照群とした。

2) 血清総ビリルビン測定法および肝臓、膵臓組織検査法

無処置ラット、総胆管結紮後1週ラット (以後結紮後1週ラット; 図表では1週ラットと記す)、総胆管結紮後3週ラット (以後結紮後3週ラット; 図表では3週ラットと記す) の尾静脈より血液を採取した。この血液を遠心分離して血清を採取し、Bilirubinometer Cat 10200 (American Optical Corporation: U.S.A.) を用いて血清ビリルビン値を測定した。

結紮後1週、3週ラット群の一部実験例で、摘出した肝臓、膵臓を10%ホルマリンで固定後、H-E染色による組織切片を作製、総胆管結紮による影響を組織学

的に検索した。

3) 胃内電解質 net flux 測定法

i) 胃嚢作製法

無処置ラット、結紮後1週および3週ラット群に24時間水分のみ与え絶食とした後、ether 麻酔下に上腹部正中切開を行った。ポリエチレンチューブ（外径3mm, 内径2mm）をラットの右側腹壁より穿通し、腹腔内へ誘導、幽門輪より約1.5cm 肛門側の十二指腸非腸間膜側に切開を加え、ここよりチューブを胃内へ挿入した。このチューブは先端より5mm のところにストッパーを設置、このストッパーより先端側に2カ所側孔をつけておいた。この先端ストッパーが幽門輪をこえた位置で、幽門輪を結紮、チューブを固定した。十二指腸切開部は縫合閉鎖した。

唾液の混入および試験液の気管への逆流防止のため、手術用顕微鏡下に、迷走神経幹2本を食道より剝離、迷走神経幹を結紮損傷しないようにして、食道のみを最下端部で結紮し胃嚢を作製した。腹壁は2層に縫合した（図1）。

胃嚢作製後、ether 麻酔下にラットを Bollman ケージに収容した。実験測定開始は麻酔から充分覚醒し、Bollman ケージ内で体動を認めるようになってから行った。

ii) 試験液の組成

試験液は Skillman ら¹⁾、および大江ら²⁾の報告を参照して、A, B 2液を作製した（表1）。A液は生理食塩水で、B液は酸性液である。B液には mannitol を加え、A液と等浸透圧に補正した。

A, B 両液とも水の net flux を算出するための標識物質として、phenolsulfonphthalein (PSP) 40mg/l を加えた。

iii) 試験液注入および採取法

図1 ラット胃嚢作製法；詳細は本文に記す

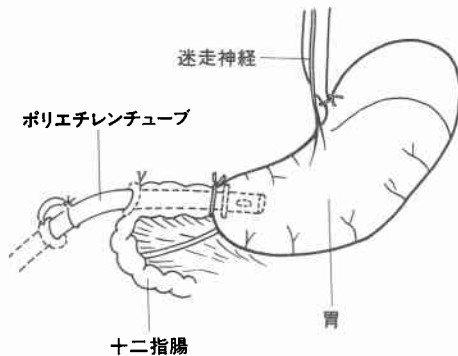


表1 試験液の組成

	A液	B液
H (mM/l)	0	80
Na (")	154	40
K (")	0	15
Cl (")	154	135
Mannitol (")	0	38
PSP (mg/l)	40	40

ポリエチレンチューブの開放端より試験液8mlを注射器にて、胃嚢内へ注入し混和した。この時、チューブ内に残留する試験液も空気1~1.5mlとともに送りこみ、正確に8mlの試験液が胃嚢内に注入されるようにした。胃嚢内で充分混和後、試験液3mlを採取し、sample 1とした。この後ポリエチレンチューブを閉鎖し、残り5mlを胃嚢内に留置した。

sample 1採取後、1時間 Bollman ケージによる拘束を負荷した後、吸引採取し、sample 2とした。この測定は各試験液、各ラットにつき連続5回5時間行った。

別の実験群では Bollman ケージによる拘束30分前に、土屋ら³⁾の報告を参照して、histamine H₂ receptor に対する specific antagonist である cimetidine (Smith Kline & French Labs) 25mg/kg を腹腔内投与し、A液を使用して前記測定を施行し、cimetidine の作用を検討した。

各実験終了時、Prussian blue 生体染色法⁴⁾により潰瘍発生有無を検索した。発生した潰瘍長は0.5mm 単位で計測し、各実験例ごとの潰瘍長総和について、各実験群ごとに平均値±標準誤差として算出、「相対潰瘍長」として表現した。

IV) 各種電解質の計測法および net flux の計算法
採取した sample は2,500回転、10分間遠心分離し、その上清を計測に使用した。

水の標識物質としての PSP 濃度測定は1mlの検体に5mlの1/10N NaOH 溶液を加えて赤色に呈色させ、Spectrophotometer 100-30（日立製作所：東京）を使用して545m μ の波長で測定した。あらかじめ求めておいた検量線より、PSP 濃度を算出した。H⁺濃度（酸度）の測定には日立一堀場 pH メーター F-5 型およびフラット型複合電極（#6210-05Y）を用いて、1/50N NaOH 溶液で滴定し、pH 7まで中和するのに要した NaOH 溶液の量より算出した。Na⁺、K⁺の濃度は Flame Photometer 205D（日立製作所：東京）で、Cl⁻

表2 水及び各電解質の net flux の計算式

$$V_{net} = V_{in} (PSP_{in}/PSP_{re} - 1)$$

$$F_{net} = V_{in} (E_{re} \cdot PSP_{in}/PSP_{re} - E_{in})$$

V_{net} : net flux of water (ml/hr)
 F_{net} : net flux of solute (μ Eq/hr)
 V_{in} : volume infused (5ml)
 PSP_{in} : PSP concentration in infused fluid (μ g/ml)
 PSP_{re} : PSP concentration in recovered fluid (μ g/ml)
 E_{in} : concentration of electrolyte in infused fluid (μ Eq/ml)
 E_{re} : concentration of electrolyte in recovered fluid (μ Eq/ml)

の濃度は Chloride Counter CL-3 (平沼製作所:東京) で測定した。

水および各種電解質の net flux は sample 1, sample 2 の各種電解質の濃度から Skillman ら¹⁾の方法に準じて、表2の計算式から算出した。

4) 胃粘膜血流量測定法

白金電極法による水素ガスクリアランス法を用いた。

水素クリアランス式組織血流計 UH-meter PHG-201 型, 卓上型自動平衡記録計 U-228 型, 関電極 UHE-201, 不関電極 UHE-001(以上すべてユニークメディカル社:東京)を使用した。

これにより得られるクリアランス曲線のピークから6分間, 18点において片対数グラフにプロットし, Kety⁵⁾⁶⁾の理論式を用いて血流量を算出した。

無処置ラット, 結紮後1週, および3週ラット群を24時間水分のみ与えて絶食とした後, ether 麻醉下に前頸部に横切開を加えて, 頸部気管を露出し, これを切開してポリエチレンチューブを挿入する気管切開法を施行した。

次いで上腹部正中切開にて開腹した。腺胃部体部大弯側で, 大網付着部より0.5cm 離れた前壁で, 大きな血管のない部位を関電極刺入部位とした。

歯科用麻醉針 (27G 針) を漿膜面より長軸方向へ刺入し, 胃内腔に貫通しないようにして, 漿膜面に麻醉針を貫通させた。この時, 麻醉針が漿膜面より透見出来る深度が最も適切と考え, 同一深度になるように注意した。この深度は, 胃粘膜内に相当することが剖検上認められた。このように, 胃壁内を長軸方向に貫通させた歯科用麻醉針の内腔を guide として, 関電極である白金電極のセンサー部を, 麻醉針が貫通している胃壁内部分の中央にくる位置において麻醉針のみ抜去し, センサー部の両側白金電極を折り曲げて固定した。腹壁は2層に縫合し, リード線は腹壁外に出しておいた。不関電極は右前腹壁皮下に装着し, リード線を縫合固定した。

以上の処置が行われたラットは, ether 麻醉下に

ラット回定台に四肢および口部を市販の輪ゴムで強固に固定することにより拘束を负荷した。

麻酔覚醒後より測定を開始した。記録計の基線の安定を待って, 水素ガス 5l/min の濃度で気管内チューブにより吸入させ, 水素ガスクリアランス曲線を記録し, 拘束下の胃粘膜血流量を測定した。この測定を2回連続して施行した後, cimetidine 25mg/kg を腹腔内投与し, その30分後に再び同様の測定を2回施行した。血流量は2回の測定値の平均値で求めた。無処置ラット, 結紮後1週, および3週ラット群の cimetidine 投与前の値を100%とし, cimetidine の効果をその変化率で表示した。

また, 無処置ラットを用いて, ether 麻醉導入後, Nembutal (Abott. U.S.A.) 50mg/kg を腹腔内投与し, 前記と同様の処置, 測定を施行し, 麻醉下, 無拘束での胃粘膜血流量を測定した。

以上得られた測定値は Mean \pm SE で表示し, 有意差検定は Student's t test を使用した。

実験結果

1) 総胆管結紮の肝臓などへの影響

血清総ビリルビン値は無処置ラット群 1.97 \pm 0.08 mg/dl, 結紮後1週ラット群 6.55 \pm 0.38mg/dl, 結紮後3週ラット群 7.02 \pm 0.49mg/dl であった。結紮後1週, および3週ラット群のそれは無処置ラット群に比べ有意の上昇を認めた (P < 0.005)。

結紮後3週ラット群の肝臓組織では, sinusoid の拡張を認め肝細胞全体が膨化していた。主として肝小葉周辺に浮腫, 変性が著明で, Glisson 鞘および Glisson 鞘に接する小葉周辺では胆管の拡張, 偽胆管の増生お

表3 拘束ストレス下, A液使用時の net flux の経時的変化 (Mean \pm SE)

時期		1	2	3	4	5
H ⁺ μ Eq/hr	正常	26.01 \pm 5.00	21.34 \pm 3.01	20.49 \pm 4.27	23.81 \pm 1.99	20.53 \pm 3.72
	1週	28.32 \pm 16.32	15.51 \pm 6.17	15.58 \pm 5.53	14.40 \pm 5.36	10.96 \pm 3.98
	3週	24.57 \pm 3.56	19.93 \pm 2.29	15.28 \pm 5.53	16.38 \pm 2.78	18.65 \pm 5.28
Na ⁺ μ Eq/hr	正常	74.89 \pm 44.09	39.90 \pm 32.59	34.20 \pm 33.38	29.62 \pm 19.73	-13.33 \pm 19.34
	1週	174.75 \pm 43.85	77.40 \pm 44.37	114.19 \pm 45.06	40.12 \pm 15.20	-25.56 \pm 12.30
	3週	175.04 \pm 41.11	52.77 \pm 14.34	5.83 \pm 15.00	29.41 \pm 9.91	-13.60 \pm 10.84
K ⁺ μ Eq/hr	正常	3.60 \pm 1.60	1.96 \pm 0.52	1.40 \pm 0.29	1.18 \pm 0.35	0.78 \pm 0.18
	1週	3.21 \pm 0.83	1.56 \pm 0.27	1.27 \pm 0.19	1.16 \pm 0.26	0.90 \pm 0.17
	3週	3.67 \pm 0.86	1.41 \pm 0.28	0.87 \pm 0.33	0.67 \pm 0.17	0.94 \pm 0.17
Cl ⁻ μ Eq/hr	正常	109.01 \pm 46.31	56.20 \pm 34.45	30.01 \pm 36.30	34.55 \pm 23.88	0.11 \pm 19.54
	1週	194.44 \pm 54.23	91.75 \pm 38.59	111.72 \pm 44.89	50.47 \pm 15.24	-26.93 \pm 13.78
	3週	215.11 \pm 30.15	58.85 \pm 8.31	25.38 \pm 15.89	44.41 \pm 12.96	10.25 \pm 10.19
水 ml/hr	正常	0.71 \pm 0.28	0.39 \pm 0.19	0.36 \pm 0.21	0.26 \pm 0.11	-0.01 \pm 0.10
	1週	1.29 \pm 0.31	0.59 \pm 0.23	0.81 \pm 0.28	0.33 \pm 0.09	-0.12 \pm 0.08
	3週	1.29 \pm 0.23	0.39 \pm 0.07	0.09 \pm 0.09	0.24 \pm 0.05	-0.02 \pm 0.06

(正常, 1週, 3週各群 N=5)

よび拡張を, Glisson 韌には線維芽細胞の増生, 軽度の炎症性細胞浸潤を認めた. great pancreatic duct 領域の膵臓組織では膵管の拡張と膵液の貯溜を認めたが, 膵実質には著変を認めなかった.

2) 胃内各種電解質 net flux 測定結果(表3, 4, 5)

i) net H⁺ flux

A液注入時, 拘束ストレス下での net H⁺ flux は軽度の経時的低下傾向を認めるも, 無処置ラット, 結紮後1週ラット, 結紮後3週ラット各群の間に有意の差を認めなかった.

cimetidine 25mg/kg 投与A液注入時, H⁺分泌抑制がみられ, その抑制率を算出すると, 拘束後1時間で, 無処置ラット群65.1%, 結紮後1週ラット群44.0%, 結紮後3週ラット群59.7%であった. 拘束後5時間で

はそれぞれ58.8%, 43.0%, 57.3%であった.

B液注入時, 無処置ラット群は拘束後3時間で, 結紮後1週ラット群は4時間で, 結紮後3週ラット群では2時間で H⁺の吸収を認めた.

ii) net Na⁺ flux

A液注入, cimetidine 投与A液注入, B液注入のいずれの場合も, 無処置ラット, 結紮後1週ラット, 結紮後3週ラット各群とも同様に, Na⁺の分泌は拘束1時間に比べ, 2時間以後は著明な減少が認められた. H⁺吸収に連動した Na⁺が分泌されるというパターンは認めなかった.

iii) net K⁺ flux

A液使用時とB液使用時との間には著明な差を認めたが, 無処置ラット, 結紮後1週ラット, 結紮後3週ラット各群間には有意の差を認めなかった. A液使用時 cimetidine 投与による影響は認めなかった.

iv) net Cl⁻ flux

A液注入, cimetidine 投与A液注入, B液注入のいずれの場合も, 無処置ラット, 結紮後1週ラット, 結紮後3週ラット各群とも同様に, Cl⁻の分泌は拘束1時間に比べ, 2時間以後は著明な減少が認められた.

v) net water flux

A液注入, cimetidine 投与A液注入, B液注入のいずれの場合も, 無処置ラット, 結紮後1週ラット, 結紮後3週ラット各群とも同様に, 経時的減少を認めた.

実験終了時, A液使用の場合, cimetidine 投与の有無にかかわらず, 潰瘍発生は認めなかった. B液使用の場合, 無処置ラット群6.75±1.47mm, 結紮後1週ラット群7.63±1.85mm, 結紮後3週ラット群5.20±1.43mmの相対潰瘍長を示す潰瘍(UI-1であるが慣行上潰瘍と呼ぶ)を腺胃部のみに発生した. 各群間には有意差はみられなかった.

表4 拘束ストレス下, cimetidine 投与A液使用時の net flux の経時変化 (Mean±SE)

時間	1	2	3	4	5	
H ⁺ μEq/hr	正常	9.07 ± 1.62	7.94 ± 0.79	9.06 ± 0.54	8.61 ± 1.06	8.46 ± 1.97
	1週	15.86 ± 2.03	9.31 ± 2.14	7.84 ± 1.55	7.34 ± 1.75	6.25 ± 1.81
	3週	9.91 ± 1.85	8.56 ± 1.91	8.01 ± 1.88	8.84 ± 1.92	7.96 ± 1.33
Na ⁺ μEq/hr	正常	124.32 ± 21.48	35.27 ± 22.65	19.98 ± 20.80	25.17 ± 11.00	-2.98 ± 6.08
	1週	139.07 ± 32.83	43.23 ± 15.64	8.30 ± 13.93	33.44 ± 6.09	-2.98 ± 13.83
	3週	78.89 ± 15.50	49.87 ± 15.87	26.84 ± 12.81	29.82 ± 11.46	14.77 ± 11.08
K ⁺ μEq/hr	正常	1.81 ± 0.55	1.68 ± 0.75	1.44 ± 0.56	0.68 ± 0.22	0.71 ± 0.14
	1週	2.05 ± 0.43	0.90 ± 0.13	0.66 ± 0.24	0.89 ± 0.26	0.99 ± 0.22
	3週	3.38 ± 0.75	1.83 ± 0.41	1.26 ± 0.23	0.94 ± 0.13	1.03 ± 0.20
Cl ⁻ μEq/hr	正常	142.34 ± 21.58	43.31 ± 21.00	35.33 ± 18.32	29.47 ± 8.61	3.07 ± 11.43
	1週	137.70 ± 36.60	48.05 ± 17.43	22.02 ± 19.18	32.68 ± 10.06	-9.88 ± 17.83
	3週	92.99 ± 17.78	55.82 ± 15.82	42.10 ± 19.15	38.79 ± 14.20	26.31 ± 11.64
水 ml/hr	正常	0.94 ± 0.13	0.28 ± 0.12	0.23 ± 0.13	0.18 ± 0.07	0.04 ± 0.04
	1週	0.90 ± 0.20	0.29 ± 0.09	0.13 ± 0.12	0.24 ± 0.05	0.01 ± 0.09
	3週	0.67 ± 0.09	0.38 ± 0.10	0.32 ± 0.09	0.25 ± 0.07	0.16 ± 0.05

(正常, 1週, 3週各群: N=5)

表5 拘束ストレス下, B液使用時の net flux の経時変化 (Mean±SE)

時間	1	2	3	4	5	
H ⁺ μEq/hr	正常	29.75 ± 7.30	4.42 ± 5.30	-9.78 ± 7.80	-7.84 ± 7.10	-0.67 ± 6.55
	1週	38.00 ± 7.57	13.94 ± 10.93	14.19 ± 10.63	-0.31 ± 6.62	9.54 ± 9.28
	3週	15.01 ± 16.59	-3.31 ± 6.14	-16.58 ± 12.93	0.81 ± 18.45	1.79 ± 5.13
Na ⁺ μEq/hr	正常	79.95 ± 8.95	31.05 ± 3.77	14.72 ± 3.82	22.77 ± 3.79	18.22 ± 2.81
	1週	98.07 ± 13.72	42.23 ± 10.36	29.79 ± 6.66	19.23 ± 3.44	16.08 ± 1.65
	3週	73.09 ± 32.96	41.22 ± 13.85	26.25 ± 9.32	23.75 ± 4.13	21.69 ± 4.51
K ⁺ μEq/hr	正常	-0.60 ± 1.24	-4.02 ± 0.98	-7.54 ± 1.48	-4.37 ± 1.56	-4.64 ± 1.65
	1週	1.24 ± 2.05	-3.30 ± 1.53	-3.30 ± 2.33	-6.55 ± 1.05	-6.56 ± 0.34
	3週	0.19 ± 1.95	-2.84 ± 1.28	-4.72 ± 1.27	-4.77 ± 0.78	-5.88 ± 0.78
Cl ⁻ μEq/hr	正常	93.43 ± 12.82	34.16 ± 11.01	-0.87 ± 9.35	19.54 ± 10.46	9.01 ± 10.73
	1週	129.70 ± 19.03	42.22 ± 10.93	47.44 ± 23.08	11.99 ± 9.55	11.24 ± 8.72
	3週	82.67 ± 41.26	38.44 ± 22.02	13.74 ± 13.84	19.65 ± 13.71	12.85 ± 13.90
水 ml/hr	正常	0.79 ± 0.09	0.28 ± 0.06	0.07 ± 0.09	0.21 ± 0.08	0.12 ± 0.06
	1週	0.99 ± 0.15	0.36 ± 0.10	0.41 ± 0.16	0.13 ± 0.07	0.12 ± 0.04
	3週	0.59 ± 0.28	0.38 ± 0.14	0.17 ± 0.12	0.22 ± 0.10	0.16 ± 0.09

(正常, 1週各群: N=8, 3週: N=5)

3) 胃粘膜血流量測定結果

無処置ラット, 結紮後1週ラット, 結紮後3週ラット各群の胃粘膜血流量の測定結果を図2に示した. 無処置ラットの血流量は, 無麻酔拘束ストレス下では, 麻酔下の血流量に比して有意の減少を示し (P < 0.005), また結紮後1週および3週ラット群の拘束ストレス下血流量は無処置ラット群の血流量に比較して, 低い傾向を示した.

無麻酔拘束ストレス下で, 結紮後3週ラット群において, cimetidine 投与による血流減少傾向を認めたが, 有意ではなかった (図3).

図2 胃粘膜血流量 (Mean±SE)

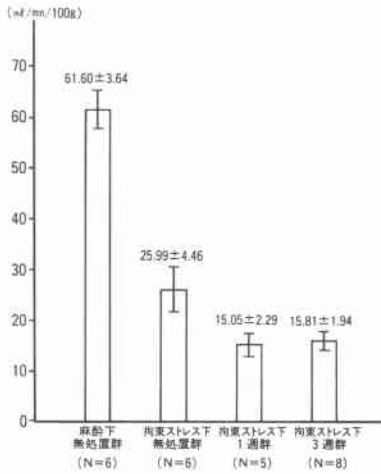
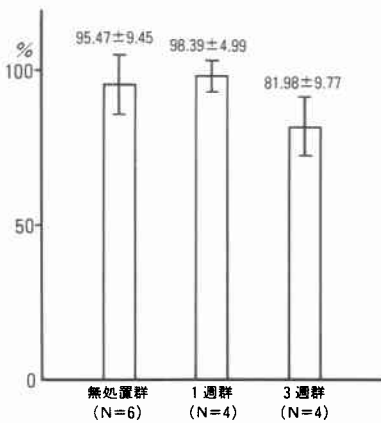


図3 cimetidine 投与後の拘束ストレス下胃粘膜血流量の変化率 (Mean±SE) ; 非投与時血流量に対する百分率で示す



考 察

黄疸が胃酸分泌能に与える影響に関し、これが亢進させるとするもの⁷⁾⁸⁾、逆に低下させるとするもの⁹⁾¹⁰⁾、影響を与えないとするもの¹¹⁾¹²⁾など、いろいろと意見が分れるが、それぞれの報告の測定条件が異なり、一定の見解を得るに至っていない。

著者らの実験で作製した総胆管結紮ラットの血清総ビリルビン値は、総胆管結紮1週間後の経時的上昇は軽度で、加藤¹³⁾の報告と一致している。しかし、この黄疸ラット(結紮後1週および3週ラット群)は、対照処置ラット群に比較して、Bollman ケージ拘束下において、A液(生理食塩水)使用時、胃酸分泌能に差がなく、また cimetidine 25mg/kg 投与により、両者とも

著明な胃酸分泌抑制が認められた。5時間の拘束実験終了時、潰瘍発生は認めなかった。

B液(酸性液)注入時には、5時間の拘束実験終了時、無処置ラット、結紮後1週ラット、結紮後3週ラット各群はほぼ同じ相対潰瘍長を示す潰瘍発生を来した。この潰瘍発生は Teorell¹⁴⁾、Davenport¹⁵⁾が提唱する H⁺の back diffusion と関係があると考えるが、しかし、その際みられる H⁺吸収の発生時期には一定の法則をみいだせず、また H⁺と Na⁺の出納に reciprocal correlation も認められなかった。

A液注入、cimetidine 投与A液注入、B液注入のいずれの場合も、無処置ラット、結紮後1週ラット、結紮後3週ラット各群で、Na⁺、Cl⁻の分泌は拘束1時間に比べ、2時間以後は著明な減少が認められた。しかし、表6に示すごとく、cations (H⁺、Na⁺、K⁺)の net flux の合計と anion(Cl⁻)の net flux の間には有意の経時的連関性が認められた。

著者らの実験系では、各時間当り net flux の計測はそれぞれ独立したもので、拘束開始後時間が経過する程、各群ラットに対する拘束ストレスが増す、non-steady-state secretion の計測をしていることになる。表6で認められたことは [H⁺] v + [Na⁺] v + [K⁺] v ≐ [Cl⁻] v ([]は各電解質の濃度、v は分泌量を表わす) の関係が成立することを示す。各時間当り net flux の v の値は一定なので、[H⁺] + [Na⁺] + [K⁺] ≐ [Cl⁻] の関係が成立する。Makhlouf ら¹⁶⁾は Hollander's two component hypothesis¹⁷⁾が成立する場合、この関係がみられるとした。

著者らの実験における各電解質の net flux の結果を解釈し、何らかの法則性をみいだそうとする場合、Linder¹⁸⁾がいうように、neutralization-dilution (Hollander¹⁷⁾) diffusion (Teorell¹⁴⁾ & Davenport¹⁵⁾)の両方の機序が働いているとして考えると好都合のように思われる。

B液を注入した各群の net flux の計算を Gerety ら¹⁹⁾が提唱した表7に示す2つの方法で行った。

1) B液を注入した各群の平均酸分泌量はA液を注入した各群のそれと同じであるとの仮定にたち、B液注入時 net H⁺ flux からA液注入時 net H⁺ flux の平均を減じて求めた。2) Hollander's two component hypothesis¹⁷⁾に従い、H⁺(secreted)、H⁺(neutralized)を求め、これをB液注入時 net H⁺ flux から減じて求めた。

その結果は表8に示す。1)の方法では拘束2時間で、

表6 cations (H⁺, Na⁺, K⁺) の net flux の合計(A)と anion(Cl⁻)の net flux (B) の間にみられる経時的連関性 [A, B: Mean±SE μEq/hr, P: Student's t test (対応のある場合) による]

		1	P	2	P	3	P	4	P	5	P	
A液 使用 時	正常	A	104.50±47.19	0.7<P<0.8	63.20±34.74	0.5<P<0.6	56.10±36.27	0.3<P<0.4	54.60±18.94	0.4<P<0.5	7.98±20.90	0.3<P<0.4
		B	109.01±46.31		56.20±34.45		30.01±36.30		34.55±23.88		0.11±19.54	
	1週	A	206.28±50.54	0.2<P<0.3	94.48±41.23	0.7<P<0.8	131.04±41.01	0.05<P<0.1	55.68±17.06	0.4<P<0.5	-13.69±11.21	0.1<P<0.2
		B	194.44±54.23		91.75±38.59		111.72±44.89		50.47±15.24		-26.93±13.78	
	3週	A	203.28±39.52	0.3<P<0.4	74.12±14.63	0.2<P<0.3	21.98±13.06	0.4<P<0.5	46.46± 9.03	0.7<P<0.8	5.99±13.67	0.5<P<0.6
		B	215.11±30.15		58.85± 8.31		25.38±15.89		44.41±12.96		10.25±10.19	
A液 使用 時 Cimetidine 投与	正常	A	135.20±18.72	0.1<P<0.2	44.89±19.76	0.7<P<0.8	30.48±18.17	0.4<P<0.5	34.46± 9.66	0.4<P<0.5	6.30± 5.03	0.6<P<0.7
		B	142.34±21.58		43.31±21.00		35.33±18.32		29.47± 8.61		3.07±11.43	
	1週	A	156.98±29.82	0.1<P<0.2	53.45±14.73	0.2<P<0.3	16.80±13.60	0.1<P<0.2	41.67± 5.29	0.1<P<0.2	4.26±13.00	0.02<P<0.05
		B	137.70±36.60		48.05±17.43		22.02±19.18		32.68±10.06		- 9.88±17.83	
	3週	A	92.19±15.67	0.9<P	60.26±17.45	0.5<P<0.6	36.11±14.21	0.5<P<0.6	39.60±12.49	0.9<P	23.76±11.42	0.8<P<0.9
		B	92.99±17.78		55.82±15.82		42.10±19.15		38.79±14.20		26.31±11.64	
B液 使用 時	正常	A	109.09±13.82	0.1<P<0.2	31.45± 7.88	0.7<P<0.8	-2.60±12.03	0.2<P<0.3	10.55±11.42	0.2<P<0.3	12.91± 8.87	0.6<P<0.7
		B	93.43±12.82		34.16±11.01		-0.87± 9.35		19.54±10.46		9.01±10.73	
	1週	A	137.30±19.83	0.5<P<0.6	52.87±19.54	0.4<P<0.5	40.67±18.63	0.4<P<0.5	12.36± 8.93	0.9<P	19.06±10.61	0.2<P<0.3
		B	129.70±19.03		42.22±10.93		47.44±23.08		11.99± 9.55		11.24± 8.72	
	3週	A	88.29±49.23	0.6<P<0.7	35.07±11.02	0.8<P<0.9	4.95±20.62	0.5<P<0.6	19.79±21.89	0.9<P	17.60± 8.57	0.6<P<0.7
		B	82.67±41.26		38.44± 22.02		13.74±13.84		19.65±13.71		12.85±13.90	

表7 net H⁺ flux の計算式

(1) Net H⁺ flux = H⁺ in residual gastric content - (H⁺ instilled + H⁺ secreted)

(2) Net H⁺ flux = H⁺ in residual gastric content - (H⁺ instilled + H⁺ secreted + H⁺ neutralized)

$$H^{+}_{secreted} = \left(VS - \frac{NaS}{150} \right) \times 160$$

$$H^{+}_{neutralized} = \frac{NaS}{6}$$

VS : volume secreted
NaS : sodium ion secretion

2)の方法では拘束1時間で、各群とも negative flux となり acid back diffusion が生じていることを示した。また計算法1)と2)の間で acid back diffusion が惹起されているかどうかの判定で80%の相関がみられた。

水素ガスクリアランス法を用いて胃粘膜血流量を測定したところ、各群とも無麻酔拘束ストレス下で有意に血流量の減少を示した。また net Na⁺ flux が各群とも拘束開始2時間以後、著明に減少することも、Na⁺分泌の主体が nonparietal component で、それは胃粘膜血流量に大きく影響されると考える¹⁶⁾とき、了解される。

表8 net H⁺ flux 2つの計算法によるそれぞれの結果

(1) Net H⁺ flux = H⁺ in residual gastric content - (H⁺ instilled + H⁺ secreted)

時間	1	2	3	4	5
正常群	3.74 ± 7.28	-16.92 ± 5.03	-30.27 ± 7.80	-31.65 ± 7.10	-21.20 ± 6.55
1週群	9.43 ± 7.69	- 1.57 ± 10.93	- 1.39 ± 10.63	-14.71 ± 6.62	- 1.42 ± 9.28
3週群	-9.56 ± 16.60	-23.24 ± 6.14	-31.86 ± 12.93	-15.57 ± 18.45	-16.86 ± 5.14

(Mean ± SE μEq/hr)

(2) Net H⁺ flux = H⁺ in residual gastric content - (H⁺ instilled + H⁺ secreted + H⁺ neutralized)

時間	1	2	3	4	5
正常群	-25.18 ± 7.28	-11.96 ± 5.03	- 7.43 ± 7.80	-21.24 ± 7.10	- 3.71 ± 6.55
1週群	-33.00 ± 7.69	- 5.90 ± 10.93	-24.38 ± 10.63	- 3.52 ± 6.62	5.26 ± 9.28
3週群	-13.17 ± 16.60	-27.78 ± 6.14	-19.36 ± 12.93	-12.75 ± 18.45	-5.03 ± 5.14

(Mean ± SE μEq/hr)

拘束ストレス下で、胃酸分泌能が維持される一方、胃粘膜血流量が低下することが、B液注入時みられた潰瘍発生の基本的原因と考える。Gerety ら¹⁹⁾は潰瘍発生時大量の acid back diffusion を必要としないとしている。潰瘍発生には critical point を越す acid back

diffusion が惹起されたかどうかが問題²⁰⁾で、胃粘膜関門の破綻時と胃内酸度の高い時期が一致することが重要な発生要件と考え、無処置ラット、結紮後1週ラット、結紮後3週ラット各群にほぼ同じ相対潰瘍長の潰瘍が生じたことが説明される。

黄疸ラット(結紮後1週および3週ラット群)の胃酸分泌能が、拘束ストレス下で、対照無処置ラット群と同じ程度に維持されることは、閉塞性黄疸にともなう急性ストレス潰瘍発生の機序を考える場合、重要な点と思われる。

黄疸ラットに胃酸過剰分泌が惹起される状態が生じたとき、著明な潰瘍発生を来すと考えられる。かつて、著者ら²¹⁾は結紮後3週ラットに別に作製した Shay-rat より採取した胃液 2ml を胃管を挿入し、one shot で胃内へ注入、その直後より金網拘束5時間を負荷することにより、相対潰瘍長 20.25 ± 5.45 mm の潰瘍発生をみ、cimetidine 25mg/kg 投与による潰瘍発生抑制率は99.0%であったことを報告した。この場合、Shay-rat 胃液内に含まれる高濃度の gastrin が胃酸過剰分泌を惹起したと推論した。

著者らの実験では、総胆管結紮による閉塞性黄疸は各電解質の net flux に影響を与えなかった。cimetidine 投与は H⁺ の分泌に大きな影響を与えたが、ほかの電解質分泌には小さな影響しか与えなかった。

Linder²²⁾はラット胃囊(ただし forestomach を除外している)内へ生理食塩水を注入、histamine 刺激時の各電解質の net flux を検討し、H⁺、k⁺、Cl⁻ の分泌の亢進、Na⁺ の分泌の低下を報告している。

この差異は cimetidine が histamine H₂ receptor を block し、H⁺ 分泌のみに影響を与え、胃粘膜血流量に影響を与えないので、Na⁺ の分泌を主体とした nonparietal component に影響を及ぼさないからと考えられた。

結 語

1) 総胆管結紮による閉塞性黄疸は各電解質の net flux に影響を与えなかった。

2) cimetidine は H⁺ の分泌には大きな影響を与えるが、他の電解質分泌には小さな影響しか与えなかった。

3) 拘束ストレス下で、胃酸分泌能が維持される一方、胃粘膜血流量が低下すること、すなわち、胃粘膜関門の破綻時と胃内酸度の高い時期が一致することが、本実験でみられた酸性液胃内注入時発生する潰瘍

の発生機序と考えられた。

4) 本実験における各電解質の net flux の結果を解釈し、何らかの法則をみいだそうとする場合、Linder が提唱したように、neutralization-dilution と diffusion の両方の機序が働いていると考え、これに基づいて解析すると好都合であった。

本論文の要旨は第21回日本消化器外科学会総会(名古屋, 1983年)、第69回日本消化器病学会総会(大阪, 1983)において報告した。

文 献

- 1) Skillman JJ, Gould SA, Chung RSK et al: The gastric mucosal barrier: Clinical and experimental studies in critically ill and normal man, and in the rabbit. *Ann Surg* 172: 564-584, 1970
- 2) 大江慶治, 横矢 仁, 音田正樹ほか: 水素イオンの back diffusion と消化性潰瘍. 第1報. 実験潰瘍における水素イオンの back diffusion と胃粘膜ペプシノーゲンの変動について. *内科宝* 25: 289-300, 1978
- 3) 土屋十次, 伊藤善朗, 日野輝夫ほか: クモ膜下出血に関連したストレス潰瘍の実験的研究. 実験的クモ膜下出血と軽度拘束水浸との合併による潰瘍ラットモデルを中心に. *日外会誌* 82: 1430-1441, 1981
- 4) Robert A, Nezamis JE: Histopathology of steroid-induced ulcer. *Arch Path* 77: 407-423, 1964
- 5) Kety SS, Schmidt CF: The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations. *Am J Physiol* 143: 53-66, 1945
- 6) Kety SS: Theory and applications of the exchange of inert gas at the lungs and tissues. *Pharmacol Rev* 3: 1-41, 1951
- 7) Silen W, Hein MF, Albo RJ et al: Influence of liver upon canine gastric secretion. *Surgery* 54: 29-36, 1963
- 8) 佐々木巖, 関根 毅, 亀山仁一ほか: 閉塞性黄疸兼脾外分泌障害時における胃酸分泌についての実験的研究. *日外会誌* 81: 247-255, 1980
- 9) Madden RJ, Ramsburg HH, Hundley JM: A critical study of the Shay rat. *Gastroenterology* 18: 119-127, 1951
- 10) Menguy R, Koger E: Mechanism of inhibition of gastric secretion in the rat following bile duct ligation. *Proc Soc Exp Biol Med* 101: 666-668, 1959
- 11) 金山知新: 閉塞性黄疸患者に出現する急性胃・十二指腸潰瘍の臨床ならびに実験的研究. *日外会誌* 74: 133-147, 1973

- 12) 新井正美：閉塞性黄疸における術後胃・十二指腸潰瘍—治療と予防対策について。医のあゆみ 90 : 821—831, 1974
- 13) 加藤良隆：閉塞性黄疸に併発する急性出血性胃十二指腸潰瘍の発生機序に関する実験的研究とくに閉塞性黄疸ラットの胃粘膜微細血管構築，胃組織セロトニンおよび胃粘膜ガストリンの経時的变化を中心に。広島大医誌 26 : 15—44, 1978
- 14) Teorell T : On the permeability of the stomach mucosa for acids and some other substances. *J Gen Physiol* 23 : 263—274, 1939
- 15) Davenport HW : Gastric mucosal injury by fatty and acetylsalicylic acids. *Gastroenterology* 46 : 245—253, 1964
- 16) Makhoul GM, MacManus JPA, Card WI : A quantitative statement of the two-component hypothesis of gastric secretion. *Gastroenterology* 51 : 149—171, 1966
- 17) Hollander F : Factors which reduce gastric acidity. *Am J Dig Dis* 5 : 364—372, 1938
- 18) Linder AE : Electrolyte changes in rat stomachs following instillation of acid solutions. *Am J Physiol* 207 : 606—612, 1964
- 19) Gerety DC, Guth PH : Restraint-induced gastric erosions Role of acid back diffusion. *Am J Dig Dis* 17 : 1012—1018, 1972
- 20) Silen W : New concepts of the gastric mucosal barrier. *Am J Surg* 133 : 8—12, 1977
- 21) 大橋広文, 土屋十次, 日野輝夫ほか：ストレス実験潰瘍モデルに対する cimetidine の作用。日消外会誌 14 : 1576—1582, 1981
- 22) Linder AE : Effect of histamine on electrolyte changes in solutions instilled in rat stomachs. *Am J Physiol* 210 : 1321—1326, 1966