

消化性潰瘍に関する実験的研究

—ラットにおけるシステアミン十二指腸潰瘍の発症機序について—

植崎 義一 矢花 剛

札幌医科大学内科学第1講座 (主任 和田武雄教授)

Experimental Studies on Peptic Ulcer

—On the Mechanism of Duodenal Ulcer Formation after Administration of Cysteamine in Rat—

Yoshikazu NARASAKI and Tsuyoshi YABANA

Department of Internal Medicine (Section 1), Sapporo Medical College
(Chief: Prof. T. Wada)

Studies on the mechanism of duodenal ulceration in rats induced by administration of cysteamine were carried out. The results obtained were as follows;

(1) Remarkable and significant secretions of gastric acid and pepsin were observed with marked distention of the stomach. However, pepsinogen content in the fundic mucosa was significantly decreased.

(2) Cysteamine administration, which gave rise to edema in 5 minutes in the upper portion of villi of the duodenal mucosa with gradual mucosal damage with lapse of time, resulted in the extremely high incidence of duodenal ulceration at 12 hours.

(3) Influence of cysteamine upon the various organs was histologically negligible except for the adrenal glands which showed severe hemorrhage.

(4) Pancreatic exocrine secretions increased by administration of cysteamine alone, whereas they were decreased by the pancreozymin-secretin test.

(5) Gastrin, glucagon, insulin, glucose and corticosterone levels in blood were significantly increased after administration of cysteamine, whereas plasma secretin levels were significantly decreased. On the other hand, release of secretin in rats pre-treated by cysteamine was decreased by intraduodenal administration of hydrochloric acid.

In conclusion, it was suggested that edema selectively induced in the duodenum and the remarkable secretions of gastric acid and pepsin were mainly involved in the induction of duodenal ulceration by cysteamine. It was also presumed that the dramatic changes of the several humoral factors and associated hemorrhage of the adrenal glands played synergetic roles in the development of duodenal ulceration.
(Received February 28, 1979 and accepted May 1, 1979)

1 緒 言

胃および十二指腸潰瘍はこれまで消化性潰瘍と一括されているが、その多彩な成因および病態生理学的変化の上からすると、両疾患には何らかの差異があろうと推測されつつも、その詳細についてはなお明らかにされていない。

Davenport¹⁾ のいわゆる“H⁺ back diffusion theory”や、Hollander²⁾ の“Two component theory”で代表される攻撃-防御因子の平衡失調に関する研究は、少なくとも胃潰瘍については多数の研究がみられるが、十二指腸潰瘍についての研究は少ない。しかし、近年実験的な十二

指腸潰瘍形成の成功をみて以来、特に Robert *et al.*³⁾ のラットについての histamine, carbachol および pentagastrin の組合わせ投与や、Selye and Szabo⁴⁾ の cysteamine (β -mercaptoethylamine hydrochloride) 投与法が注目され、中でも後者は方法的に簡便ゆえ追試実験⁵⁻¹⁰⁾ が活発に行なわれているが、その胃酸分泌亢進作用は注目されているものの、その潰瘍形成の成因については完全な解明をみるにいたっていない。

本研究においては、cysteamine (Cyst) 潰瘍の発症機序に関連して、胃・十二指腸局所の組織学的変化と、2, 3の病態生理学的背景について実験を進めた。

2 実験方法

2.1 Cysteamine (Cyst) の投与法

体重 150~420 g の Wistar 系雄ラットに水のみを自由に与えて 24 時間絶食させた後、Fujii and Ishii⁷⁾ に従い Cyst 100 mg を生理的食塩水 (生食水) 1 ml に溶解して、これを体重 1 kg 当り 400 mg (4 ml) の割合で皮下注射した。対照群には生食水のみを同量皮下注射した。麻酔を要する実験にはウレタンを用いた。

2.2 胃液検査

体重 295~340 g のラットに麻酔を施し、腹部を正中線上で切開した上で内径 1 mm のビニール管を経口的に胃内へ挿入し、先端を胃体部附近に固定した。次いで十二指腸起始部を切開し、幽門輪を経て胃内へ内径 3 mm のシリコン管を挿入して固定し、その反対側を右腹壁から貫通させて体外へ誘導した。胃内へ挿入した管を通して洗浄液を注入すると、これが十二指腸側の管から停滞することなく流出することを確認して切開創を閉じた。呼吸管理のため全例について気管切開を施した。1 時間ごとに胃管より生食水 10 ml を注入して胃液を洗い出し、Cyst 投与前後の排出量およびその酸度を測定すると共に、6 時間目までの胃液について pepsin 活性を測定した。

2.2.1 酸度の測定

日本消化器病学会胃液測定法検討委員会¹¹⁾ の規定に従い、pH-stat を用いて酸度を測定し、1 時間の分泌量を $\mu\text{Eq/hr}$ として表わした。

2.2.2 Pepsin 活性の測定

同じく日本消化器病学会委員会試案¹²⁾ に従い、Hb 基質溶液に胃液を加えて 37°C、10 分間消化後、5% TCA を用いて反応を停止し、濾液中の 1-tyrosine 量を比色測定 (波長 640 nm) して、pepsin 活性を表わした。

2.2.3 胃粘膜内 pepsinogen の測定

体重 380~420 g のラット 21 匹を対照群、Cyst 投与後 3 時間目群、6 時間目群および 12 時間目群の 4 群に分け、上記と同様にして開腹して腺胃の胃体部ならびに前庭部組織 (筋層および漿膜を含む) をそれぞれ湿重量 20 mg ないし 30 mg 採取し、0.1 M phosphate buffer (pH 7.3) 中で Teflon homogenizer (池本理化工業社) を用いて homogenize した後、10,000 G、4°C で 20 分間遠沈し、上清について pepsin 活性を測定した。なお活性の表現には同一試料の蛋白濃度を Lowry 法¹³⁾ により測定して、蛋白質 1 mg 当りについてその活性を表わした。

2.3 胃・十二指腸粘膜の組織学的検査

体重 150~210 g のラット 27 匹を対照群、Cyst 投与 3 時間目群、6 時間目群および 12 時間目群の 4 群に分け、

すべて頸動脈瀉血により脱血死せしめた後開腹し、空腸以下に変化の無いことを確かめた上で胃と十二指腸について以下の観察を進めた。すなわち、胃は大彎側に沿い切開し、実体顕微鏡を用いて浮腫、出血、びらん、および潰瘍の有無と、それらの程度を数・広さ・深さにわたり調べた。次にこれを Formalin 固定し、Hematoxylin-Eosin (H-E)、PAS、Alcian blue (pH 2.5)、および Colloid-iron 染色 (Mowry 法)¹⁴⁾ と、PAS-Alcian blue 重染色および Azan 染色を施して組織変化を比較観察した。なお、特に早期変化をみる目的で Cyst 投与後 5 分、15 分、30 分、1 時間および 2 時間目の 5 群についても同様に検査を進めた。

2.4 膵、肝、腎および副腎の組織学的検査

これらのラットについて同時に、膵、肝、腎および副腎についても H-E ならびに PAS 染色を施して組織学的検査を行った。

2.5 膵外分泌能検査

2.5.1 膵管 cannulation について

体重 140~185 g のラット 20 匹を対照群、Cyst 投与 3 時間目群、6 時間目群および 12 時間目群の 4 群に分け、それぞれについて麻酔を施したのち蔽内¹⁵⁾ の方法に従い、腹部正中線上で切開して内径 0.5 mm のポリエチレン管を膵胆管の十二指腸端より挿入し、膵液を採取した。この場合肝門部に近い胆管を結ぶことで胆汁流入を防ぎ、管内の液が透明であることを確認して実験を開始した。

2.5.2 Pancreozymin-Secretin 試験

Pancreozymin (Pz) および Secretin (Sec) はそれぞれ 10 U/kg を頸静脈より注射した。まず基礎分泌 20 分間の膵液と、Pz 注射後 10 分間、次いで Sec 注射後 40 分間の計 50 分間にわたる膵液を採取し、全膵液量、amylase 活性、および重炭酸塩量を測定した。膵液量を管内に流出する液の長さから計測した後、あらかじめ流動パラフィンを入れて氷水で冷却しておいた小試験管の底部へ 1 ml の生食水で洗い出す。これに用いる生食水は 60°C で温浴してガス除去をした後、流動パラフィンで表面を覆って 4°C に保存するが、これは本試験の blank としても用いられる。Amylase 活性の測定には Caraway 変法¹⁶⁾ による iodometric method (和光純薬 Kit 法) を用い、重炭酸イオン濃度は全自動ガス分析器 (ABL1, Acid-Base Laboratory, Radiometer Co.) によって測定した。

2.6 各種血中ホルモンならびに血糖の測定

体重 270~330 g のラット 50 匹を Cyst 投与後 15 分、30 分、1 時間、2 時間、および 3 時間目群と、対照無処置群ならびに生食水注射対照 3 時間、および 6 時間目群の計 8 群に分け、それぞれから頸動脈瀉血によって採血して測定に供した。

2・6・1 Gastrin (G) の測定

既報¹⁷⁾のごとく二抗体法との比較上満足すべき結果を得た RIA-Kit (Dainabot Lab.) を用いて G 値を測定した。

2・6・2 Secretin (Sec) の測定

RIA-Kit (第1ラジオアイソトープ研究所) を用いた。まず本 Kit の基礎的検討を行った結果、標準曲線、感度、回収率および再現性は良好で、血漿を測定対象とする限り 25~800 pg/ml の間においては満足すべき成績が得られた。血中 Sec の分解を避けるため Trasylol 500 単位/0.1 ml に EDTA 1.2 mg を溶解して氷冷した小試験管内に被検血液 1 ml をとって血漿を分離し、-20°C 下に測定時まで保存した。

2・6・3 Insulin (Ins) ならびに Glucagon (Glu) の測定

共に polyethyleneglycol を用いる一抗体法^{18,19)} によって測定した。

2・6・4 Corticosterone (Crst) の測定

Murphy²⁰⁾ に従い、competitive protein binding assay により測定した。

2・6・5 血糖の測定

ブドウ糖酸化酵素法¹⁹⁾ によって測定した。

2・7 十二指腸内塩酸注入法と採血について

体重 220~330 g のラット 14 匹を対照群、Cyst 投与後 5 分、1 時間、および 2 時間目群の 4 群に分け、麻酔して開腹後十二指腸起始部より注射針を通して慎重に 0.1 N HCl 1 ml を 10 秒間で十二指腸内へ注入した。採血は HCl 注入前および注入開始後 5 分、10 分、30 分、および 60 分目に頸静脈より行い、さきの場合同様 Trasylol-EDTA 添加条件下に血液を採血して血漿を分離し、Sec ならびに G の測定に供した。

なお膵液分泌による十二指腸内腔のアルカリ化を避けるために、さきに (2・6・1) 示した方法で膵尿管から膵液を直接採取する方法をとった。

3 実験成績

3・1 Cyst 投与ラットの胃液分泌

3・1・1 胃酸・pepsin 分泌について

Table 1 のごとく Cyst 投与後胃酸分泌は特に 2 時間目

Table 1 Changes of gastric acid output in rats after cysteamine administration

Case	Body weight (g)	BAO (μ Eq/hr.)	Acid output (μ Eq/hr.) after cysteamine administration					
			1 hr.	2	3	4	5	6
1	320	0.9	5.7	12.1	21.5	37.0	38.2	52.8
2	340	1.5	4.8	20.4	29.3	35.6	—	—
3	300	2.2	25.2	75.3	99.1	90.2	67.5	55.0
4	310	10.8	5.8	16.0	21.4	21.5	16.0	—
5	295	3.5	8.7	34.2	65.2	147.7	140.5	59.0
Mean \pm S. E.	313 \pm 8.0	3.8 \pm 1.8	12.6 \pm 4.4	31.6 \pm 11.5	47.3 \pm 15.2*	66.4 \pm 23.4*	65.9 \pm 23.5*	55.6 \pm 1.8**

Differences are statistically significant between basal at levels; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.001$.

Table 2 Changes of gastric pepsin output in rats after cysteamine administration

Case	Body weight (g)	Basal pepsin output ($\times 10^3 \mu$ g/hr.)	Pepsin output ($\times 10^3 \mu$ g/hr) after cysteamine administration					
			1 hr.	2	3	4	5	6
1	320	1.1	3.4	7.1	7.2	8.0	7.9	7.4
2	340	0.9	2.9	6.8	7.5	5.7	—	—
3	300	2.9	7.8	14.1	10.5	10.4	7.7	7.0
4	310	2.4	2.4	8.7	8.9	9.3	6.6	—
5	295	2.4	4.5	10.4	13.0	16.0	15.4	8.7
Mean \pm S. E.	313 \pm 8.0	1.9 \pm 0.4	4.2 \pm 1.0*	9.4 \pm 1.3**	9.4 \pm 1.1**	9.9 \pm 1.7**	9.4 \pm 2.2*	7.7 \pm 0.5**

Differences are statistically significant between basal at levels; $p < 0.05$ and ** $p < 0.001$.

より著明に増加し、4時間目には $66.4 \pm 23.4 \mu\text{Eq/hr}$ と有意の上昇を示す。

Pepsin 分泌は Table 2 のごとく、基礎分泌に比較して、Cyst 投与後1時間目および2時間目にはそれぞれ 4.2 ± 1.0 および $9.4 \pm 1.3 \text{ mg/hr}$ と有意に上昇し ($p < 0.05$ および $p < 0.001$)、その後6時間にわたり高値を持続した。pepsin 分泌は胃酸分泌よりも早く亢進を示した。

Table 3 Changes of peptic activity in the fundus and antrum tissues of rats after cysteamine administration

Group	Timer after cysteamine administration	No. of rats	Antrum tissue (O. D. 640 nm/mg protein)	Fundus tissue (O. D. 640 nm/mg protein)
Control	0	5	0.090 ± 0.01	1.032 ± 0.11
Cysteamine	3 hr	5	0.135 ± 0.01	0.728 ± 0.14
	6 "	5	0.116 ± 0.01	0.746 ± 0.11
	12 "	6	0.116 ± 0.01	$0.347 \pm 0.03^*$

Difference is statistically significant between control at levels; * $p < 0.001$.

(mean \pm S. E.)

3.2 Cyst 投与ラットの十二指腸ならびに胃粘膜の変化

Cyst 投与ラットには、2時間目の著明な胃液分泌亢進に伴い、胃液貯留による胃拡張状態がみられた。この段階においては胃粘膜表面には少なくとも肉眼の変化を認め難く、12時間目において Photo 1 のごとく、十二指腸に選択的にびらん潰瘍形成がみられた。

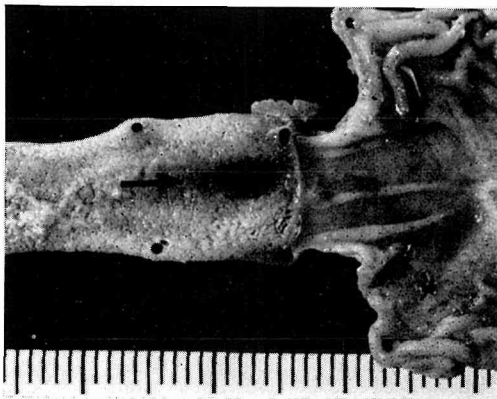


Photo 1 Mucosal findings of the duodenum of rat at 12 hr after administration of cysteamine. The arrow indicates ulceration.

実体顕微鏡を用いて粘膜損傷を観察すると共に、組織学的変化を以下の5段階に分けた。すなわち、対照群の正常像 (Grade 0) は Photo 2 A のごとく、粘膜表面には全域にわたって glycocalyx が万遍なく認められ、杯細胞の

3.1.2 胃粘膜組織内 pepsinogen の変動

Table 3 のごとく、胃体部粘膜 pepsinogen は Cyst 投与後減少傾向を示し、12時間目群では対照群との間に有意の低下がみられた ($p < 0.001$)。一方前庭部粘膜については Cyst 投与後やや増加傾向を示したが、有意の変化とは判定されなかった。

PAS-Alcian blue 重染色による反応性は強い。絨毛先端部には一部にわずかに剥離細胞を認める程度である。Grade 1 は粘膜表面の色調の変化が主で、正常粘膜に比べると白色を帯びる。組織学的には表面の粘液層がとり除かれた状態で、Photo 2 B に示すようにその固有層の内部と、一部吸収上皮細胞基底膜に接して浮腫がみられる。この浮腫状の部分はいずれの染色法にも染まらない。浮腫の強い絨毛表面には PAS-Alcian blue 反応陽性粘液が減少し、吸収上皮細胞の配列が乱れ、核が膨化する傾向を認める。また Brunner 腺の PAS 反応にも染色性の低下傾向がみられる。しかし陰窩には浮腫がなく、組織構造にもほとんど変化を認めない。むろん粘膜筋板、粘膜下層および筋層には異常を認めない。以上の変化は、Cyst 投与5分目群においても幽門直下の部分に軽度認められるが、主として3時間目群において最も特徴的で大多数の例に認められた。

Grade 2 は、Photo 2 C のごとく粘膜固有層に明らかな変化を認める場合で、深・浅二様の多発性のびらん形成をみ、6時間目群において最も著明であった。絨毛はもとより、陰窩の崩壊も顕著となり、粘膜固有層内に好中球の出現をみ、時には出血を伴う。

Grade 3 は、Photo 2 D のごとく粘膜筋板を破る潰瘍形成で、12時間目群では80%以上がこの程度の変化を示した。潰瘍の形は楕円形・単発が多いが、しばしば線状潰瘍あるいは多発性潰瘍形成を示す。幽門輪直下の部位では Brunner 腺が充満する像を示し、この腺が途切れるまで

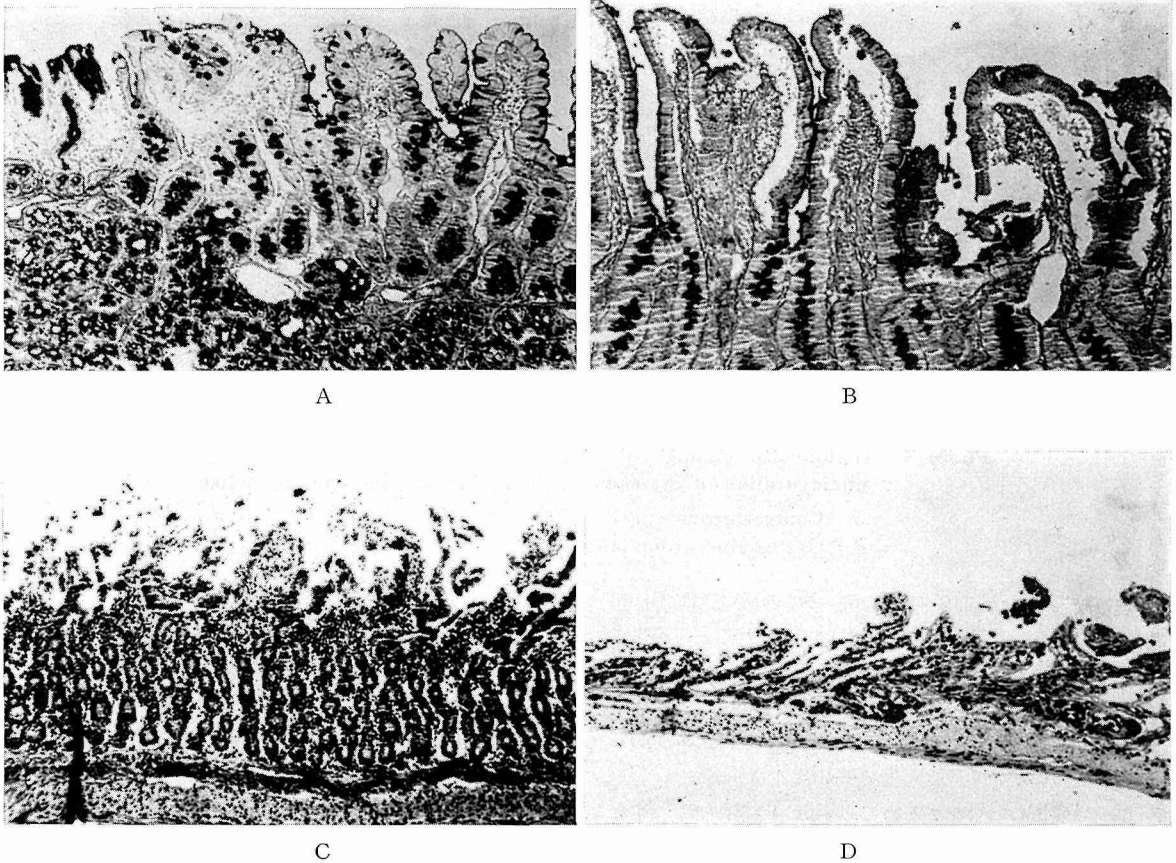


Photo 2 Histological changes of the duodenal mucosa of rats after administration of cysteamine.

- A. Normal control: Grade 0. (PAS-Alcian blue staining, $\times 100$)
- B. Edema is seen in the lamina propria of mucosa and in the absorptive cells: Grade 1. (PAS-Alcian blue staining, $\times 100$)
- C. Erosion, infiltrated with inflammatory cells in the lamina propria of mucosa: Grade 2. (H-E staining, $\times 100$)
- D. Extensive and deep duodenal ulcer: Grade 3. (H-E staining, $\times 100$)

Table 4 Grade of mucosal changes of the duodenum in rats after cysteamine administration

Time after cysteamine administration	Number of rats	Body weight (g)	Grade				
			0	1	2	3	4
0	5	160 \pm 4	5*				
3 hr	4	150 \pm 15		3	1		
6 "	6	174 \pm 7			6		
12 "	10	175 \pm 4		1	1	4	4

Grade 0: Normal Grade 1: Discoloration
 " 2: Erosion " 3: Ulceration
 " 4: Perforation

* means number of rats

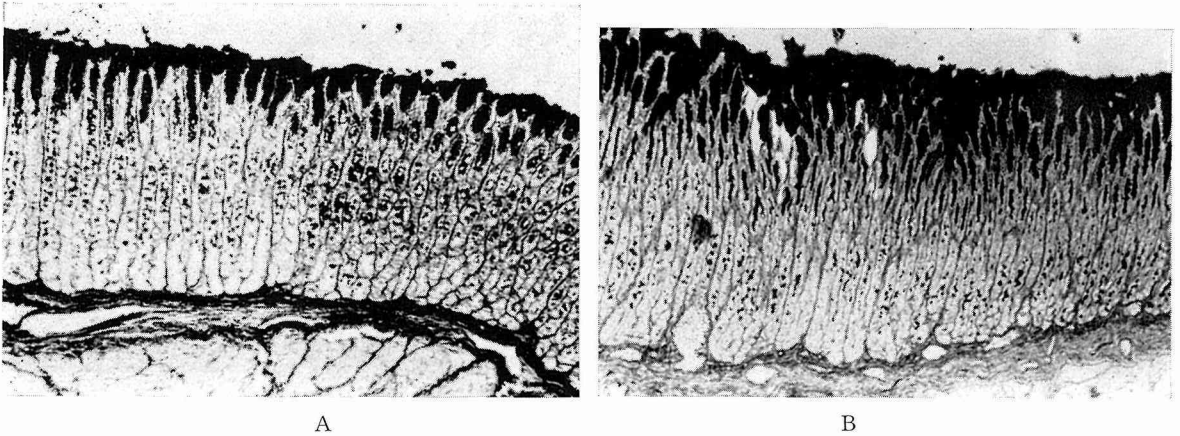


Photo 3 Histological findings of the stomach of rats with and without administration of cysteamine. (PAS-Alcian blue staining, $\times 100$)

- A. Control group
B. Cysteamine group (at 12 hr)

の距離は約 10 mm 前後であるが、多くの潰瘍底は Brunner 腺の少ない粘膜の部分に相当してみられる。潰瘍底に出血・凝固壊死層の見られる例もある。潰瘍周辺も小出血巣、浮腫およびびらんなど、多彩な変化を示す。なお進んで穿孔を示す例を Grade 4 としたが、12 時間目群の 40% 前後にこの程度の進行性変化を認めた。

以上の変化の結果をまとめて Table 4 に示した。すなわち、粘膜変化は Cyst 投与後の経過時間に伴って進行を示した。

一方胃粘膜についてこれを見ると、Cyst 投与 5 分目以後の各時間群について、腺腔および粘膜表面の粘液層がそれぞれ分泌増加を示した。12 時間目群の例を Photo 3 に示すが、一見胃酸分泌亢進に対する、いわゆる粘液 barrier の増加反応を思わせる。時間を追って詳細にみると、6 時間目以後の群の中には幽門腺領域から腺胃体部へかけてわずかに表面上皮の変化と、固有腺内に浮腫傾向を示す例が少数に見出された。

3.3 その他の臓器にみられる変化

Cyst 投与ラットを各時間群について調べたが、脾・肝・腎には組織学的変化を見出さなかった。しかし副腎には、Cyst 投与 3 時間目以後の群に髄質あるいは皮質の束状帯および網状帯に出血巣を生ずる例が認められた。代表例を Photo 4 に示した。

3.4 Cyst の脾外分泌機能への影響

3.4.1 脾液量について

Table 5 のごとく、脾液基礎分泌量は Cyst 投与群が対照群よりも増加を示し、6 時間目群は対照群との間に有意差を示した ($p < 0.05$)。しかし Pz-Sec 負荷後の脾液分泌量



Photo 4 Extensive hemorrhages in the adrenal cortex and medulla of rat at 12 hr after cysteamine administration. Zonal orientation of the cortex is obscure due to hemorrhages in this picture. (H-E staining, $\times 40$)

は、各時間ごとの比較上、有意差は認めないが、Cyst 投与群の方が対照群よりも減少傾向を示した。

3・4・2 膵 amylase 分泌について

Table 6 のごとく、膵 amylase の基礎分泌は、Cyst 投与群が対照群よりも 3 時間および 12 時間目群において有意の増加を示した (共に $p < 0.05$)。しかし、Pz-Sec 負荷の総 amylase 分泌量は、Cyst 投与後に減少して 6 時間目群は対照群との間に有意差を示した ($p < 0.05$)。3 時間およ

び 12 時間目群も対照群より減少傾向を示した。

3・4・3 重炭酸塩分泌について

Table 7 のごとく、重炭酸塩の基礎分泌は、Cyst 投与後 6 時間目群は対照群より有意の増加を示した ($p < 0.01$)。Pz-Sec 負荷後の総重炭酸塩分泌は Cyst 投与 3、6 および 12 時間目群はいずれも対照群より減少傾向を示したが、有意差は認められなかった。

Table 5 Changes of pancreatic juice secretion before and after pancreozymin-secretin (Pz-Sec) administration in rats of control and with cysteamine pre-treatment

Group	Time after cysteamine administration	No. of rats	Basal ($\mu\text{l}/20 \text{ min.}$)	After Pz-Sec administration					Total volume ($\mu\text{l}/50 \text{ min.}$)
				$\mu\text{l}/0\sim 10 \text{ min.}$	$\mu\text{l}/\sim 20$	$\mu\text{l}/\sim 30$	$\mu\text{l}/\sim 40$	$\mu\text{l}/\sim 50$	
Control	0	5	10.8 \pm 2.0	47.8 \pm 5.4	42.9 \pm 5.6	35.9 \pm 5.5	12.0 \pm 1.9	6.0 \pm 1.1	140.6 \pm 11.6
Cysteamine	3 hr	4	12.9 \pm 2.5	50.1 \pm 4.2	34.5 \pm 2.4	24.0 \pm 2.9	11.7 \pm 2.8	4.9 \pm 0.9	125.3 \pm 6.0
	6 "	5	28.7 \pm 6.7*	47.0 \pm 3.4	35.2 \pm 5.9	23.3 \pm 3.4	12.0 \pm 2.5	6.5 \pm 1.0	123.0 \pm 11.6
	12 "	6	17.7 \pm 3.7	39.8 \pm 7.8	31.4 \pm 4.5	23.6 \pm 4.1	10.0 \pm 1.8	5.8 \pm 1.1	110.9 \pm 15.1

Difference is statistically significant between control at levels; * $p < 0.05$. (mean \pm S. E.)

Table 6 Changes of pancreatic amylase output before and after Pz-Sec administration in rats of control and with cysteamine pre-treatment

Group	Time after cysteamine administration	No. of rats	Basal (I U/20 min.)	After Pz-Sec administration (I U/50 min.)
Control	0	5	23.4 \pm 5.0	701.0 \pm 79.0
Cysteamine	3 hr	4	74.7 \pm 20.7*	591.4 \pm 36.1
	6 "	5	94.8 \pm 31.0	459.1 \pm 42.8*
	12 "	6	76.5 \pm 18.2*	488.0 \pm 90.6

Differences are statistically significant between control at levels; * $p < 0.05$. (mean \pm S. E.)

Table 7 Changes of pancreatic bicarbonate output before and after Pz-Sec administration in rats of control and with cysteamine pre-treatment

Group	Time after cysteamine administration	No. of rats	Basal ($\mu\text{Eq}/20 \text{ min.}$)	After Pz-Sec administration ($\mu\text{Eq}/50 \text{ min.}$)
Control	0	5	0.8 \pm 0.2	11.2 \pm 0.8
Cysteamine	3 hr	4	0.9 \pm 0.5	9.9 \pm 0.4
	6 "	5	2.2 \pm 0.3*	9.9 \pm 0.6
	12 "	6	1.3 \pm 0.6	9.4 \pm 1.5

Difference is statistically significant between control at levels; * $p < 0.01$. (mean \pm S. E.)

Table 8 Changes of immunoreactive gastrin, secretin, glucagon, insulin and corticosterone, and of glucose levels in blood of rats of control and with cysteamine pre-treatment

Group	Time after cysteamine administration	Gastrin (pg/ml) (No.)	Secretin (pg/ml) (No.)	Glucagon (pg/ml) (No.)	Insulin (μ U/ml) (No.)	Corticosterone (μ g/dl) (No.)	Glucose (mg/dl) (No.)
Control	0	40 \pm 5 (6)	77 \pm 10 (6)	149 \pm 7 (6)	14 \pm 1 (6)	20 \pm 3 (6)	84 \pm 3 (6)
Cysteamine	15 min	187 \pm 54 (7)	116 \pm 17 (8)	213 \pm 29 (8)	25 \pm 2** (8)	38 \pm 3** (8)	113 \pm 8* (8)
	30 "	44 \pm 2 (5)	34 \pm 13* (5)	504 \pm 74*** (5)	31 \pm 3*** (5)	37 \pm 7* (5)	127 \pm 11** (5)
	1 hr	144 \pm 37** (6)	30 \pm 9** (6)	615 \pm 48*** (6)	27 \pm 2*** (6)	34 \pm 3* (6)	124 \pm 12** (6)
	2 "	108 \pm 41 (5)	25 \pm 6** (6)	895 \pm 121*** (6)	26 \pm 1*** (6)	25 \pm 2 (6)	138 \pm 12** (6)
	3 "	155 \pm 25*** (5)	47 \pm 9* (8)	882 \pm 55*** (7)	27 \pm 1*** (7)	28 \pm 1# (7)	146 \pm 12*** (5)
Saline	3 "	63 \pm 1 (5)	146 \pm 21* (5)	140 \pm 13 (5)	12 \pm 1 (5)	20 \pm 2 (5)	83 \pm 2 (5)
	6 "	50 \pm 8 (7)	181 \pm 12* (7)	140 \pm 11 (7)	16 \pm 2 (7)	23 \pm 2 (7)	86 \pm 5 (7)

(mean \pm S. E.)

Differences are statistically significant from control at levels; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, and from group of saline administration at levels; # $p < 0.01$ and ## $p < 0.001$.

3.5 Cyst の各種血中ホルモンならびに血糖値への影響

各測定値を一括して Table 8 に示し、同時に項目に応じて図で示した。

3.5.1 血清 Gastrin (G) について

Table 8 と Fig. 1 に示すごとく、Cyst 投与後血清 G は 15 分、1 および 2 時間にわたり著明な上昇を示し、3 時間目群は生食水投与対照群との間に有意の高値を示した ($p < 0.01$)。

3.5.2 血漿 Secretin (Sec) について

Table 8 と Fig. 2 に示すごとく、Cyst 投与後血漿 Sec 値は 15 分目に一時上昇するが、それ以後は著明な低下を示し、3 時間目群は生食水投与対照群との間に有意の低値を示した ($p < 0.01$)。したがって、Cyst 投与群が脾の基礎分泌上 3 因子の増加傾向を示したのは、一時的な Sec 上昇との間に関連性を有するものと推測されよう。

3.5.3 血漿 Glucagon (Glu) について

Table 8 と Fig. 3 に示すごとく、血漿 Glu は Cyst 投与後上昇を続け、3 時間目群で対照群との間に有意差を示した ($p < 0.001$)。

3.5.4 血漿 Insulin (Ins) について

Table 8 と Fig. 4 に示すごとく、Cyst 投与群は 15 分目以後対照群との間に有意の上昇を示した ($p < 0.001$)。

3.5.5 血漿 Corticosterone (Crst) について

Table 8 と Fig. 5 に示すごとく、対照群に比較して Cyst 投与群の Crst は高値を示し、15 分目群では最も高く有意差を示した ($p < 0.01$)。

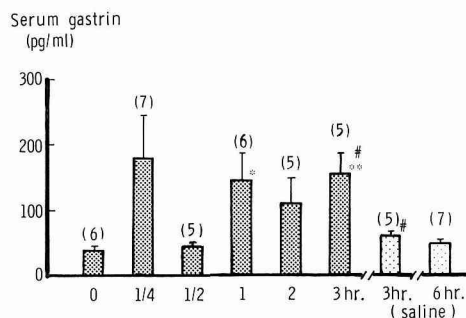


Fig. 1 Changes of serum gastrin levels after administration of cysteamine in rats.

* $p < 0.01$, ** $p < 0.001$, # $p < 0.01$.

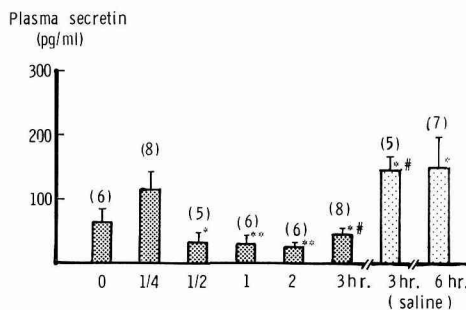


Fig. 2 Changes of plasma secretin levels after administration of cysteamine in rats.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, # $p < 0.01$.

3.5.6 血糖値について

Table 8 と Fig. 6 に示すごとく, Cyst 投与後の血糖は上昇して各測定値は対照群との間に有意差を示した. 中でも3時間目群は最も高値を示した.

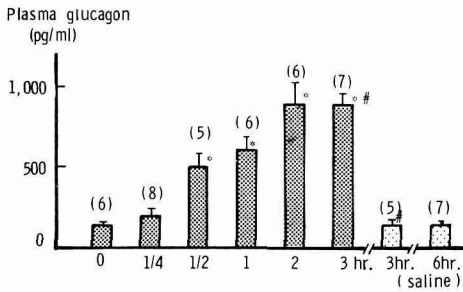


Fig. 3 Changes of plasma glucagon levels after administration of cysteamine in rats.

* p<0.001, # p<0.001.

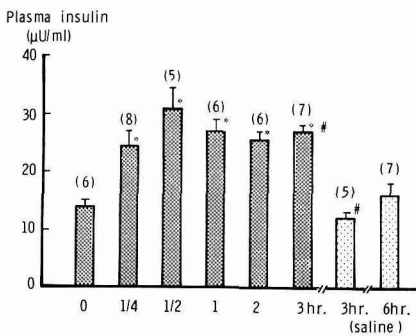


Fig. 4 Changes of plasma insulin levels after administration of cysteamine in rats.

* p<0.001, # p<0.001.

3.6 十二指腸内塩酸注入に伴う血漿 Sec ならびに G 値の変動

Table 9 のごとく, 対照群での血漿 Sec は前値に比較して HCl 負荷後, 5, 10 および 30 分とそれぞれ有意の上

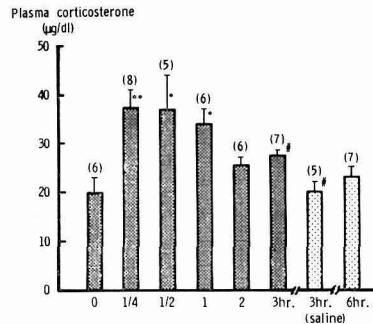


Fig. 5 Changes of plasma corticosterone levels after administration of cysteamine in rats.

* p<0.05, ** p<0.01, # p<0.05.

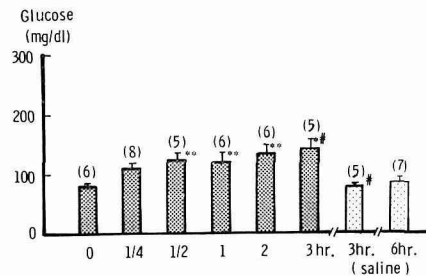


Fig. 6 Changes of blood glucose levels after administration of cysteamine in rats.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001, # p<0.01.

Table 9 Changes of secretin and gastrin levels in plasma before and after intraduodenal infusion of HCl (0.1 N, 1 ml) in rats of control and with cysteamine pre-treatment

Group	Time after cysteamine administration	No. of rats	Plasma secretin (pg/ml)				Plasma gastrin (pg/ml)					
			Before (basal)	after HCl infusion				Before (basal)	after HCl infusion			
				5 min	10	30	60		5 min	10	30	60
Control	0	5	121 ± 21	271 ± 57**	191 ± 21*	227 ± 14***	124 ± 15	138 ± 25	93 ± 14*	85 ± 17*	105 ± 25	207 ± 48*
Cysteamine	5 min	3	136 ± 23	281 ± 64	167 ± 29**	192 ± 31***	184 ± 24*	93 ± 32	60 ± 16	58 ± 16	175 ± 85	300 ± 148
	1 hr	3	176 ± 55	178 ± 32	150 ± 36	137 ± 28	94 ± 26	253 ± 21	311 ± 118	223 ± 76	153 ± 15	141 ± 31
	2 "	3	64 ± 29	287 ± 69*	170 ± 10*	150 ± 6*	104 ± 46	155 ± 62	133 ± 52	117 ± 37	362 ± 327	515 ± 248

(mean ± S. E.)

Differences are statistically significant between basal at levels; * p<0.05, ** p<0.01 and *** p<0.001.

昇を示し、60分目には前値のレベルに回復した。これを Cyst 投与5分目群でみると、HCl 負荷による Sec 上昇は対照群よりもやや低く、その後も HCl 負荷による上昇態度は対照群よりも緩徐で遅れる。しかし60分目においてもなお高値で、対照群との間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。これを Cyst 投与1時間目群でみると、その前値は対照群よりも高い傾向を示すが、HCl 負荷によっては対照群の様な上昇反応を示さず、その反応はむしろ時間と共に低下する。Cyst 投与2時間目群では前値が低下し、HCl 負荷を施すと5分目に一時的に有意の上昇反応を認め ($p < 0.05$)、以後減少する。

G 値の上では Table 9 のごとく、対照群では前値に比較して HCl 負荷5および10分目にはそれぞれ有意の低下を示し、60分目には再上昇がみられた。Cyst 5分目群においては、この点 HCl 負荷後に、有意ではないが対照群同様に一時的な G 値の低下傾向がみられ、30分および60分目に再上昇を示した。しかし Cyst 1時間目群では前値が高く、HCl 負荷後も5分目においてさらに上昇し、以後漸減した。Cyst 2時間目群の前値は対照群とほぼ同レベルであるが、HCl 負荷後は10分目まで低下を示し、30分以後に再び上昇がみられた。

したがって HCl による十二指腸内酸性刺激に対して、対照群では著明な血中 Sec 上昇と G 低下がもたらされるが、Cyst 群では投与後の時間経過に伴って酸性刺激への反応態度が異なる。しかし、全般的には血中 Sec 分泌が低く、かえって G 分泌が高い傾向を示した。

4 総括と考察

Cysteamine (Cyst) による十二指腸潰瘍の形成機序について実験を進めたが、これまでは過剰の胃酸分泌が主要な役割を演ずるものと推測されてきた。この点本研究においても Cyst 投与4時間目には、基礎分泌のおよそ17倍に相当する胃酸分泌亢進が認められた。文献的には、Groves *et al.*⁶⁾ は Cysteamine が histamine の遊離をもたらすことを推測しているが、Ishii *et al.*⁹⁾ は histamine が無関係であることと同時に、迷走神経切断や atropin 投与で Cyst による胃酸分泌亢進が抑制されることから、cholinergic な過程の関与を主張している。したがってその機序の解明については一致をみないが、大量の胃酸分泌現象が直接・間接的に潰瘍形成に関与するという点では一致している。

著者らの今回の結果もこれを支持するものであるが、平行して胃液 pepsin 分泌を測定すると、Cyst 投与によって著明な pepsin 分泌の増加がみられ、2時間目には基礎分泌のおよそ5倍に及び、以後6時間目まで高値を持続し

た。しかも pepsin 分泌の促進は胃酸分泌よりも早くにみられ、むしろその後の酸分泌亢進に伴うから、潰瘍発症機序の上でこれがまた重要な役割を演ずるものと考えられる。念のために胃底腺領域粘膜内の pepsinogen を調べると、Cyst によって減少し、12時間目には有意差を以て減少を示していた ($p < 0.001$)。

これまで Cyst 投与により pepsin, pepsinogen の変化を認めた発表は見出されない。その変化を時間的経過の上から考えると、あたかも pepsinogen が Cyst によって主細胞から短時間内に放出され、その後も分泌刺激が持続することによってその合成-分泌サイクルが平衡性を失ったかのような現象を推測させる。この実験範囲では、Cyst がその合成を阻害すると言うよりも、その放出刺激によって細胞内 pepsinogen が枯渇した状態が考えられるが、引き続き行われている蛍光抗体法による pepsinogen の消長や、電顕的に主細胞内の pepsinogen 顆粒の分布を調べる方法などによって明らかにされよう。

実験潰瘍における酸・pepsin の役割については、酸の腐蝕作用だけではなかなか潰瘍の発生に成功しない。24~48時間という長時間にわたる胃酸分泌促進剤の投与で始めて潰瘍形成がみられるが^{3,22)}、そのさいには十二指腸潰瘍が主であって胃潰瘍はほとんど認められない。臨床胃潰瘍の酸分泌能は必ずしも亢進していない²³⁾。しかしその活動期と治癒期の比較では、対照群より低酸であっても、前者での亢進が認められる²⁴⁾。この点十二指腸潰瘍では胃酸分泌亢進は必発条件とされ、病因上の役割は胃潰瘍の場合に比較してはるかに大きい²⁵⁾。

一方、pepsin 活性の亢進が潰瘍形成に重要な役割を演ずることは、Schiffirin²⁶⁾ のネコの実験、Leveen²⁷⁾ のイヌの実験、今井²⁸⁾ のラットを用いた実験などの報告がある。また臨床胃潰瘍も十二指腸潰瘍患者が高値を示すことは周知のこと²⁹⁾ である。Pepsin の十二指腸潰瘍形成に関連して、最近 Liebman and Samloff³⁰⁾ はラットの十二指腸内を塩酸や acetylcholine で灌流して pepsinogen 分泌を証明し、それが Brunner 腺から分泌されることを発表^{31,32)} して注目をひいている。われわれの教室では Cyst 潰瘍との関係についてこの点を追究しているが、なお解明をみるにいたっていない。

ところで、Cyst 投与後の潰瘍形成過程についてその組織学的変化の上から、特に十二指腸の初期変化に注目した報告はみられない。今回は実体顕微鏡を用いてその色調変化、びらん[●]の程度、潰瘍および穿孔形成の上で、変化を観察した。その結果、Cyst 投与5分目において十二指腸粘膜には色調の変化が認められる。時間と共にびらん[●]形成が進むが、6時間目にはほとんど全例にびらん[●]を認め、12時

間目においては80%以上に潰瘍形成を認める。

平行して組織学的検討を加えると、変色した粘膜は、表面の粘液層が減少し、絨毛上部に特徴的な浮腫を認める。びらん形成期については、ほとんどの例が浮腫状になった絨毛の壊死・崩壊像を呈し、粘膜固有層内に好中球の浸潤がみられ、時には小出血巣を認める。腸陰窩、粘膜筋板、さらには粘膜下層へと組織構造の崩壊が進む様相が認められる。潰瘍形成については大体6~12時間の間に進行して、12時間目群の40%はさらに穿孔を示すに至る。穿孔形成には十二指腸粘膜の筋層が胃の場合の約1/3と薄いことも関係しよう。また初期変化としてみられる浮腫は幽門直下より始まるが、潰瘍はBrunner腺が密に分布している幽門直下よりも、分布が少ないやや肛門側の部位において、より深く形成される。

念のために、胃粘膜についても組織学的検査を行ったが、Cyst投与30分目以降には明らかに表面上皮および体部腺腔内の粘液分泌が増加を示す。しかし12時間までの観察では、わずかに胃体部表面上皮の変化と固有腺内の浮腫傾向を認めたが、明らかな潰瘍形成例は見られなかった。

組織学的にみられたこれらの変化から考察すると、胃ではCyst投与後の過剰胃液分泌に対してその“粘液barrier”が対応するかの様に分泌反応を示す。この点十二指腸では杯細胞とBrunner腺の分泌粘液がbarrier効果の役割を果たすものと考えられているが、Cyst投与によりかなり早い時期に絨毛先端部の粘膜固有層と吸収上皮細胞内に浮腫を生じ、そのために肉眼的に変色がみられる。この変化は、当然barrier的役割を演ずる粘液成分にも異常をもたらすことを考えさせる。潰瘍形成期においては、むしろその変化は高度となる。一方、吸収上皮細胞のglycocalyxの生理的役割について³³⁾は、胆汁酸・醇酵素に対する防御作用の上では重視されているが、酸・pepsinへの対応には適当でないと言えよう。塩酸・pepsin作用で障害をうけた上皮細胞の変化は時間と共に深層へと進み、浸潤を招き、潰瘍形成をみるものと考えられる。吸収上皮細胞そのもののlife cycleは2~4日と極めて短かいし³⁴⁾、吸収機能を営む時間も5~6時間と言われているから、傷害が上皮細胞のみに限局するものであれば可逆性変化として修復される可能性もあるだろうが、Cyst投与による胃分泌亢進・胃拡張現象の発生はその点かなり長時間にわたるゆえ、変化が時間と共に固有層に及ぶことは推測に難くない。当初は腸腺構成細胞は比較的正常機能を保つものと考えられるが、それもある時点からは障害を受けようし、基底顆粒細胞群、Paneth細胞などの生理的役割にも変化を生じよう。

関連して今回は、特に十二指腸粘膜の防御機構にも役割を注目されているSecretin (Sec)の分泌態度をGastrin (G)と共に調べた。またSecが腓液および胆汁分泌を促す、いわゆる生理的な適応機序の面についても検索を進めた。

Cystの腓外分泌への影響としては、3因子共に基礎分泌上有意の上昇を示すが、いわゆるPz-Sec試験を施すと、対照群よりもむしろ減少を示した。このことはCyst投与後比較的早期に見られるから、Cystが腓に対しても直接的に働きかけるものと考えられる。そのために、Pz-Sec試験を施すと、むしろ腓分泌の低下がもたらされるものと解釈されよう。

一方、胃酸分泌亢進に関連して血中Gをみると、Cyst投与30分目に一時的に低下はするが、1時間目以後明らかに有意の上昇を示した。この点はLichtenberger *et al.*³⁵⁾の報告にも一致するが、胃分泌亢進をもたらす機序の上で、Gの血中上昇以外に、その感受性異常を始めとして、いわゆる背景因子と言われるものの何が、どこまでCystとの間に関わりをもつかは不詳である。

しかし同時に注目されたことは、Cyst投与後2時間目からは胃内の胃液貯留が亢進して著明な胃拡張を呈したことである。Szabo *et al.*⁸⁾はCyst投与後に胃排出時間の延長を報告しているが、この現象は胃分泌亢進と同時に、胃の蠕動運動低下・幽門括約筋の緊張がもたらされるか、さらには胃壁筋層の麻痺を伴うためであるかもしれない。そうであるとすれば、貯留した胃液が幽門洞を異常に伸張刺激するから、そのために高G血症が促進される。一方では、Secおよび腓液の一時的分泌亢進がもたらされ、これが幽門輪の括約筋緊張を高めることも考えられる。今後はCyst投与が自律神経系や胃固有筋層に対していかなる影響を与えるか、そのことが検討課題となるであろう。

さてCyst投与後血漿Sec値は有意な減少を示したが、これに十二指腸内塩酸負荷を施した際の血漿Secの動きをみると、Cyst投与後の経過に伴って対照群よりもSec分泌の低下傾向がみられた。なお詳細にみると、特に塩酸負荷後Sec低下を示すラットは、Secの前値が220 pg/ml以上の高値を示して、すでに十二指腸が胃酸刺激を受けた可能性を推測させる。Secはその生合成に時間を要する一方、半減期は3分³⁶⁾とされ、作用時間も短い。したがってこの場合には、持続的な酸性刺激によってSec放出が亢進してその合成が間に合わない状態が推測される。一方ではCyst投与後のSecが対照群よりも低い例もみられたが、これは塩酸負荷に対しては十分な反応性を示したから、あるいは胃拡張のために胃液の十二指腸内への流出が停止したためであるかもしれない。

その他の体液因子の血中動態については、血漿 Crst レベルが Cyst 投与後きわめて早期に上昇し、15 分目には最も高値となり ($p < 0.01$)、時間と共に低下した。寒冷拘束によるストレス潰瘍実験でも、5 分目に血中 Crst の上昇を認めているが³⁷⁾、Cyst 潰瘍の反応機序はストレス潰瘍と異なるにしても、副腎皮質への刺激の関与は無視できない。その点は組織学的検査の上で皮質束状帯および網状帯から髓質にかけて出血巣が見出され、その大きい変化の認められる点から裏づけられた。文献的にも Waterhouse-Friderichsen 症候群に似た病態であることを報告³⁸⁾したものもあるし、prednisolone 前処置によって Cyst 潰瘍の発生が抑制されるという Robert *et al.*⁵⁾ の報告もある。しかし Cyst 投与に伴う血中 Crst レベルを測定した報告は他に見当たらない。

今回は血糖レベルへの影響も考えられるところからこれをみると、Cyst 投与後のいずれの時間群でも血糖は有意に上昇を示した。血糖変動に関連して血中 Ins も明らかに早期から平行的に高レベルを保ち、この点血中 Glu はやや遅れて上昇を示した。その機序にはストレスの関与³⁹⁾も知られており、内臓神経・迷走神経刺激^{40,41)}でもその増加が知られているから、この点からも Cyst の自律神経系への影響は注目する必要がある。

いずれにもせよ本実験を通して、Cyst にはその胃分泌亢進・十二指腸粘膜障害作用の背景に、G, Sec 分泌への影響以外に Crst, Ins, Glu などの体液因子分泌へもきわめて大きい影響を及ぼし、血糖動員をもたらすことを明らかにした。今回は睪液分泌への影響も加えて明らかにしたが、これらの諸条件・諸因子が相乗的に作用して十二指腸潰瘍形成をもたらすものと推測された。残る課題としては、十二指腸潰瘍形成への pepsin の関与、および Cyst の自律神経系への作用機序の解明があるが、引続き行われている教室の研究結果に待ちたい。

5 結 論

Cysteamine 投与によるラットの十二指腸潰瘍発症機序に関連して研究を進め、以下の知見を得た。

1. Cyst 投与後胃液分泌亢進がもたらされ、特に 2 時間目からは胃拡張状態を伴い、12 時間にわたり大量の胃液貯留を認めた。
2. 胃酸は Cyst 投与後 4 時間目にピークを示し、基礎分泌の約 17 倍に達した。
- 一方、pepsin は胃酸よりも早く高値となり、2 時間目にピークを示した。胃底腺粘膜内 pepsinogen は Cyst 投与により明らかに減少した。
3. 十二指腸粘膜の組織学的変化をみると、Cyst 投与

5 分目においてすでに十二指腸絨毛先端部に浮腫を認め、3 時間目には固有層にも広く浮腫形成がもたらされた。6 時間目にはびらんを形成し、12 時間目には全例の 80% に潰瘍形成を認め、このうち 40% は穿孔を伴った。一方胃では Cyst 投与後表面上皮の粘液層に増加傾向がみられた。

4. その他副腎皮質の束状帯および網状帯から髓質にわたる多数の出血巣が注目された。しかし肝・腎・脾には著変を認めなかった。

5. 睪分泌上、液量、重炭酸塩および amylase は Cyst により増加したが、Pz-Sec 試験に対するそれらの反応には減少傾向がみられた。

6. 血中 G 値は Cyst 投与後有意の上昇を示し、血漿 Sec は一過性に上昇したが、30 分以後には有意に低下した。Glu および Ins も Cyst により有意の上昇を示し、血糖値も平行して増加した。血中 Crst は Cyst 投与 15 分目に最高値となり、以後漸減した。

7. 十二指腸内塩酸注入による血中 Sec の上昇反応をみると、HCl 注入前の血中 Sec 値が高い例では反応を示さないが、それが低い例は正常の Sec、上昇反応を示した。なお血中 G は Sec と鏡像関係を示して低下した。

以上より、Cyst による十二指腸潰瘍形成には、胃酸・pepsin 分泌の著しい増加により十二指腸粘膜には浮腫がもたらされ、関連して胃・腸・睪機能相関上重視されている gastrin, secretin, insulin, glucagon など体液因子間の平衡失調を招く一方、血中 corticosterone にも上昇がみられるため、これらの相乗的な作用によって潰瘍形成をみるに至るものと推論した。

稿を終えるにあたり、北大医学部第一生理、本間研一博士および札幌通信病院臨床検査科部長筒井高紀博士の協力に感謝すると共に、病理組織学的所見について教示いただいた本学第二病理学小野江為則教授に深く謝意を表す。

本研究は文部省科学研究費(奨励 A)の補助に負うた。

文 献

1. Davenport, H. W.: Gastric mucosal injury by fatty and acetyl salicylic acids. *Gastroenterology* **46**, 245-253 (1964).
2. Hollander, F.: Two component mucous barrier: its activity in protecting the gastroduodenal mucosa against peptic ulceration. *Arch. Intern. Med.* **93**, 107-120 (1954).
3. Robert, A., Stout, T. J. and Dale, J. E.: Production by secretagogues of duodenal ulcers in the rat. *Gastroenterology* **59**, 95-102 (1970).

4. Selye, H. and Szabo, S.: Experimental model for production of perforating duodenal ulcers by cysteamine in the rat. *Nature* **244**, 458-459 (1973).
5. Robert, A., Nezamis, J. E., Lancaster, C. and Badalemti, J. N.: Cysteamine-induced duodenal ulcers: A new model to test antiulcer agents. *Digestion* **11**, 199-214 (1974).
6. Groves, W. G., Schlosser, J. H. and Mead, F. D.: Acid hypersecretion and duodenal ulcers produced by cysteamine in rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **9**, 523-534 (1974).
7. Fujii, Y. and Ishii, Y.: Influence of various factors and drugs on cysteamine induced duodenal ulcers in the rats. *Japan. J. Pharmacol.* **25**, 663-670 (1975).
8. Szabo, S., Lichtenberger, L. M., Haith, L. R. Jr. and Reynolds, E. S.: Pathogenesis of duodenal ulcer: Effect of propionitrile and cysteamine gastric emptying in the rat. *Fed. Proc. (Abstract)* **35**, 393 (1976).
9. Ishii, Y., Fujii, Y. and Honma, M.: Gastric acid stimulating action of cysteamine in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **36**, 331-336 (1976).
10. Szabo, S.: Animal model of human disease: Duodenal ulcer disease. *Am. J. Pathol.* **93**, 273-276 (1978).
11. 第9回 胃液測定法検討委員会報告: 日消会誌 **69**, 125-126 (1972).
12. 第13回 胃液測定法検討委員会報告: 日消会誌 **71**, 206 (1974).
13. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275 (1951).
14. Mowry, R. W.: Improved procedure for the staining of acidic polysaccharides by Müller's colloidal (hydrous) ferric oxide and its combination with the feulgen and the periodic acid-schiff reactions. *Lab. Invest.* **7**, 566-576 (1958).
15. 藪内信治: 糖尿病の膵外分泌機能異常とその機序に関する研究. 札幌医誌 **46**, 136-147 (1977).
16. 内田孝夫: アミラーゼ. 検査と技術 **4**, 50-55 (1976).
17. 打矢 透, 矢花 剛, 角本芳隆, 高須重家, 谷内 昭, 和田武雄: ガストリン radioimmunoassay の基礎的検討. —Wilson 抗 gastrin 血清を用いる二抗体法と gastrin Kit (Dainabot) 法の比較について— 核医誌 **12**, 645-651 (1975).
18. 鬼原 彰, 菊池 晃, 八重樫田鶴子, 大原弘通: Polyethyleneglycol を用いた peptide hormone の radioimmunoassay に関する研究. 第一報 Insulin について. 臨床病理 **23**, 449-452 (1975).
19. 伊藤義智, 菊池 晃, 稲辺靖仁郎, 藪内信治, 鬼原 彰, 大原弘通: Polyethyleneglycol を用いた peptide hormone の radioimmunoassay に関する研究. 第二報 Glucagon について. 臨床病理 **23**, 811-814 (1975).
20. Murphy, B. E. P.: Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein-binding radioassay. *J. Clin. Endocrinol.* **27**, 973-990 (1976).
21. 奥田 潤, 三輪一智: D-グルコースおよびそのアノマーの酵素的微量定量法. 蛋白質・核酸・酵素 **17**, 216-224 (1972).
22. Emâs, S. and Grossman, M. I.: Production of duodenal ulcers in cats by infusion of porcine gastrin. *Gastroenterology* **52**, 959-965 (1967).
23. Wormsley, K. G. and Grossman, M. I.: Maximal histalog test in control subjects and patients with peptic ulcer. *Gut* **6**, 427-435 (1965).
24. 能勢 隆: 胃液分泌の臨床的研究. —特に Gastrin test の基礎的検討とその臨床応用をめぐって— 札幌医誌 **45**, 1-14 (1976).
25. 和田武雄: 胃液分泌からみた胃・十二指腸潰瘍, 吉利 和編集: 胃・十二指腸潰瘍のすべて. 43-54, 南江堂, 東京 (1971).
26. Schiffrin, M. J.: Production of experimental jejunal ulcer. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **45**, 592-594 (1940).
27. Leveen, H. H.: Chemical, physiological, and pathological observations on the role of pepsin and hydrochloric acid in the production of experimental ulcers. *Gastroenterology* **8**, 648-661 (1947).
28. 今井健二: 消化性潰瘍の成因に関する実験的並びに臨床的研究. 日消会誌 **73**, 108-122 (1976).
29. 山田 哲, 佐藤勝巳: 病態別亜最高ガストリン刺激・最高ガストリン刺激分泌比と日内較差およびペプシン活性分画パターンの検討. 三好秋馬, 白鳥常雄編集: 胃液分泌の病態と生理. 68-75, みづほ出版, 東京 (1976).
30. Liebman, W. M. and Samloff, I. M.: Effect of topical acid on duodenal pepsinogen secretin in the rat. *Am. J. Dig. Dis.* **23**, 989-992 (1978).
31. Cooke, A. R. and Grossman, M. I.: Studies on the secretion and motility of Brunner's gland

- pouches. *Gastroenterology* **51**, 506-514 (1966).
32. Samloff, I. M. and Liebman, W. M.: Cellular localization of the group II pepsinogens in human stomach and duodenum by immunofluorescence. *Gastroenterology* **65**, 36-42 (1973).
 33. 山元寅男: 消化と吸収. *代謝* **14**, 91-99 (1977).
 34. Cheng, H. and Leblond, C. P.: Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I. Columnar cell; II. (Cheng, H.): Mucous cells; III. Entero-endocrine cells; IV. (Cheng, H.): Paneth cells. *Am. J. Anat.* **141**, 461-480, 481-502, 503-520, 521-536 (1974).
 35. Lichtenberger, L. M., Szabo, S. and Trier, J. S.: Duodenal ulcerogens, cysteamine and propionitrile, stimulate serum gastrin levels in the rat. *Gastroenterology* **73**, 1305-1308 (1977).
 36. Boden, G.: Secretin radioimmunoassay. Ed: Thompson, J. C.: *Gastrointestinal hormones*. 283-294, University of Texas Press, Austin (1975).
 37. 三谷深泰, 高須重家: 寒冷拘束ラットの胃粘膜障害(びらん並びに潰瘍形成)をめぐる病態生理学的・薬理学的研究. *札幌医誌* **48**, 185-197 (1979).
 38. Szabo, S. and Reynolds, E. S.: Structure-activity relationships for ulcerogenic and adrenocorticolytic effects of alkyl nitriles, amines and thiols. *Environ. Health. Perspect.* **11**, 135-140 (1975).
 39. Luyckx, A. S. and Letebvre, P. T.: Mechanisms involved in the exercise-induced increase in glucagon secretion in rats. *Diabetes* **23**, 81-93 (1974).
 40. Kaneto, A., Miki, E. and Kosaka, K.: Effects of vagal stimulation on glucagon and insulin secretion. *Endocrinology* **95**, 1005-1011 (1974).
 41. Bloom, S. R., Edwards, A. V. and Vaughan, N. J. A.: The role of the sympathetic innervation in the control of plasma glucagon concentration in the calf. *J. Physiol.* **233**, 457-466 (1973).