



プロトンポンプ阻害薬およびヒスタミンH2 受容体拮抗薬の胃体部粘膜 adenosine 3',5' - cyclic monophosphate 動態に与える影響

沼田, 典久

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1996-07-10

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2040

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002040>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	ぬま た のり ひさ 沼 田 典 久 (兵庫県)
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	博ろ第1516号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与の日付	平成8年7月10日
学位論文題目	プロトンポンプ阻害薬およびヒスタミンH ₂ 受容体拮抗薬の胃体部粘膜 adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate動態に与える影響

審 査 委 員	主査 教授 齋 藤 洋 一
	教授 岡 田 昌 義 教授 春 日 雅 人

論 文 内 容 の 要 旨

I. 緒言

消化性潰瘍の薬物治療はヒスタミンH₂受容体拮抗薬 (H₂RA) およびプロトンポンプ阻害薬 (PPI) の登場にともない著しく進歩した。H₂RAとPPIの作用機序上の違いは、H₂RAが胃壁細胞のヒスタミンH₂受容体拮抗作用により胃酸分泌を抑制するのに対して、PPIは壁細胞のプロトンポンプの阻害作用により胃酸分泌を抑制することである。一方、ヒスタミンは、独自の受容体に作用しセカンドメッセンジャーであるadenosine 3', 5'-cyclic monophosphate (cAMP)を産生し最終的にはプロトンポンプを介して胃酸が分泌されるが、ラットでは胃体部粘膜に存在するenterochromaffin-like (ECL)細胞がヒスタミンを含有し、ここから放出されたヒスタミンが胃酸分泌を調節すると考えられている。しかし、H₂RAおよびPPIがどのようにヒスタミン、cAMPに関与しているかその詳細は不明である。

そこで本研究では胃体部粘膜ヒスタミン・cAMPを免疫組織化学的に検討するとともにH₂RAおよびPPIの胃体部粘膜とヒスタミンおよびcAMPに及ぼす影響を中心に検討した。

II. 材料と方法

1. 実験動物と実験群

体重250 g前後のWistar系雄性ラットを使用し、H₂RAとしてファモチジン20mg/kg/dayを生理食塩水2 ml/kgに溶解後投与したH₂RA群、PPIとしてランソプラゾール20mg/kg/dayを0.5%メチルセルロース含有1%炭酸水素ナトリウム (CMC) 2 ml/kgに懸濁後投与したPPI群、および対照として生理食塩水2 ml/kg/dayを投与した生食群とCMC 2 ml/kg/dayを投与したCMC群との計4群を作製した。各群とも4日間連続経口投与し、最終投与から6時間後に以下の項目を検討した。なお各群とも実験前の24時間は絶食とした。

2. ヒスタミン測定

血中ヒスタミン値はHPLC (日立L-6200形液体クロマトグラフィー, TSKGEL SP-2SW 4.6mmI.D.

×250mm（東ソー）を用いて蛍光光度計にて測定した。

また、胃体部粘膜ヒスタミン量は胃を摘出後大彎切開し、アセトンドライアイス法で胃体部粘膜を採取し抽出精製後濃度測定した。

3. 胃体部粘膜cAMP量測定

胃体部粘膜cAMP量の測定はヒスタミンと同様に胃体部粘膜を採取後cAMPを抽出精製し、Yamasa cAMP RIA kit（ヤマサ醤油社製）を用いて測定した。

4. 血中ガストリン値測定

血中ガストリン値は血清分離後、Gastrin RIA kit II（ダイナボット社製）を用いて測定した。

5. 胃内pH

エーテル麻酔下に、pH測定用微小ガラス電極（MI-506, microelectrodes, Inc.）の先端を前胃－壁細胞領域境界より1cm幽門側の胃体部大彎に留置し測定した。

6. 胃体部粘膜ヒスタミンおよびcAMPの免疫組織化学的検討

ラットを0.5%picric acid-4%formaldehyde含有PBSにてtranscardiacに灌流固定後、胃を摘出しさらに同液で4℃90分固定した。つぎにPBSおよびsucrose加PBSにて洗浄後包埋凍結し5μmの連続凍結切片を作成した。

一次抗体としてヒスタミンでは家兎抗ヒスタミン血清（Chemicon社製）を、またcAMPでは家兎抗cAMP血清（Chemicon社製）を用いた。二次抗体はいずれもhorseradish peroxidase標識抗家兎IgG抗体（Chemicon社製）を用い、diaminobenzidine-H₂O₂にて発色した後脱水封入し光学顕微鏡にて観察した。

Ⅲ. 結果

1. 血中ヒスタミン値

血中ヒスタミン値は各群間に有意差を認めなかった。

2. 胃体部粘膜ヒスタミン量

H₂RA群の胃体部粘膜ヒスタミン量は $31.4 \pm 3.8 \mu\text{g/g}$ であったが、対照の生食群では $64.2 \pm 9.6 \mu\text{g/g}$ とH₂RA群が有意に（ $p < 0.01$ ）低値を示した。また、PPI群は $37.2 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$ であったが、CMC群では $62.3 \pm 9.6 \mu\text{g/g}$ とPPI群が有意に（ $p < 0.01$ ）低かった。

3. 血中ガストリン値

H₂RA群の血中ガストリン値は $433 \pm 70 \text{ pg/ml}$ であったが、生食群では $133 \pm 29 \text{ pg/ml}$ とH₂RA群が有意に（ $p < 0.01$ ）高値を示した。一方、PPI群は $1200 \pm 63 \text{ pg/ml}$ であったが、CMC群では $147 \pm 29 \text{ pg/ml}$ と8.2倍の有意な（ $p < 0.01$ ）高値を示した。またPPI群はH₂RA群と比べて有意に（ $p < 0.01$ ）高かった。

4. 胃内pH

H₂RA群の胃内pHは 5.2 ± 0.4 であったが、生食群では 4.2 ± 0.6 とH₂RA群が有意に（ $p < 0.01$ ）高値であった。一方、PPI群は 7.4 ± 0.2 であったがCMC群では 4.2 ± 0.3 とPPI群の方が有意に（ $p < 0.01$ ）高値であった。また、PPI群はH₂RA群と比べて有意に（ $p < 0.01$ ）高かった。

5. 胃体部粘膜cAMP量

H₂RA群の胃体部粘膜cAMP量は $534 \pm 44 \text{ pmol/g}$ であったが、対照の生食群では $826 \pm 72 \text{ pmol/g}$ とH₂RA群が有意に（ $p < 0.01$ ）低値を示した。また、PPI群は $472 \pm 39 \text{ pmol/g}$ であったが、CMC群では $811 \pm 78 \text{ pmol/g}$ とPPI群が有意に（ $p < 0.01$ ）低かった。

また、PPI群ではH₂RA群に比べて有意に ($p<0.05$) 低下していた。

6. 免疫組織化学的検討

1) 胃体部粘膜ヒスタミン

生食群及びCMC群では、細胞質に多数の顆粒状の陽性染色像を有する細胞を胃体部粘膜腺底部に認めたが、腺内腔とは接していなかった。一方、H₂RA群およびPPI群では対照と比べてヒスタミンの反応が弱く、またH₂RA群とPPI群の間にはヒスタミンの反応に差はなかった。

2) 胃体部粘膜cAMP

生食群およびCMC群の胃体部粘膜腺頸部および腺体部を中心にcAMP反応陽性細胞を多数みとめた。H.E.を重染色するとこの細胞はやや大型の核を細胞の中心にもち、豊富な細胞質はエオジン好性であったことから壁細胞と同定された。

一方、H₂RA群およびPPI群ではそれらの細胞のcAMP反応は生食群およびCMC群に比べて著しく減弱していた。H₂RA群とPPI群の間にはcAMPの反応の差を認めなかった。

IV. 考察

H₂RAがヒト胃体部粘膜cAMPに与える影響の検討は、in vitroの実験系でAliらはシメチジンがヒスタミン刺激下のcAMPの産生を抑制し、in vivoでも荒川らはシメチジンがラットの胃体部粘膜cAMPを有意に低下せたと報告し、今回の検討でもH₂RA群の胃体部粘膜cAMP量は対照である生食群と比べて有意に低下していた。一方、PPIに関してAliらはヒトから生検した胃体部粘膜を用いてPPI投与時にヒスタミン刺激を加えたところcAMPの産生が増加し、PPI非投与時と比較してcAMPの変動は有意な差を認めなかったと報告したが、神経性、液性因子など種々の影響を受ける今回のin vivoの検討ではPPI群の胃体部粘膜cAMP量は対照のCMC群と比べて有意に減少した。

次にin vivoにおける粘液頸細胞、壁細胞、主細胞など胃体部粘膜を構成する細胞のcAMP動態を免疫組織化学的に検討したところ、胃体部粘膜cAMPは壁細胞にのみ認められ他の細胞には認められなかったことから、壁細胞以外の胃体部粘膜細胞には相対的に少量のcAMPしか存在しないと推測され、ラットの胃体部粘膜cAMP量は壁細胞cAMP量の動態を反映したと考えられる。またH₂RA群およびPPI群では胃体部粘膜cAMP量が減少したが、免疫組織化学的検討からこのcAMPの減少は壁細胞cAMPの動態を反映したと考えられる。

H₂RA群において壁細胞cAMP量が減少したのはH₂受容体拮抗作用に基づくと考えられるが、PPI群の血中ヒスタミン値が明らかな変動を示さないのに胃体部粘膜cAMP量が低下した理由として、血中ガストリン値の上昇によるECL細胞中のヒスタミン放出促進とその結果としてのヒスタミン量減少が関与していると考えられる。PPIの胃酸分泌抑制機序においてECL細胞内ヒスタミンのパラクリン作用が重要な意義を有すると推測される。

V. 結論

1. H₂RA群およびPPI群の胃体部粘膜ヒスタミン量およびcAMP量が減少した。
2. 免疫組織化学的検討から胃体部粘膜では壁細胞にcAMP量が豊富で、H₂RA群およびPPI群での胃体部粘膜cAMP量の減少は壁細胞cAMP量の減少を反映したと考えられる。
3. PPIの胃酸分泌抑制機序はプロトンポンプ阻害作用だけでなくECL細胞内のヒスタミン減少も関与する可能性が示唆された。
4. PPIの胃酸分泌抑制機序において、ECL細胞中のヒスタミンのパラクリンとしての作用が重要で

あると推測された。

論文審査の結果の要旨

本研究者は、消化性潰瘍の薬物治療としてのヒスタミン H_2 受容体拮抗薬 (H_2 RA) およびプロトンポンプ阻害薬 (PPI) がどのようにヒスタミン、cAMPに関与しているかその詳細を知ることが目的として胃体部粘膜ヒスタミン・cAMPを免疫組織化学的に検討するとともに H_2 RAおよびPPIの胃体部粘膜ヒスタミンおよびcAMPに及ぼす影響を中心に検討した。

実験は体重250 g前後のWistar系雄性ラットを使用し、 H_2 RAとしてファモチジン20mg/kg/dayを生理食塩水 2 ml/kgに溶解後投与した H_2 RA群、PPIとしてランソプラゾール20mg/kg/dayを0.5 %メチルセルロース含有 1 %炭酸水素ナトリウム (CMC) 2 ml/kgに懸濁後投与したPPI群、および対照として生理食塩水 2 ml/kg/dayを投与した生食群とCMC 2 ml/kg/dayを投与したCMC群との計 4 群を作製した。各群とも 4 日間連続経口投与し、最終投与から 6 時間後に以下の項目を検討した。すなわち、

- (1) 血中ヒスタミン値
- (2) 胃体部粘膜ヒスタミン量
- (3) 胃体部粘膜cAMP量
- (4) 血中ガストリン値
- (5) 胃内pH
- (6) 胃体部粘膜ヒスタミンおよびcAMPの免疫組織化学的計測。

その結果次の成績が得られた。すなわち、

- (1) 血中ヒスタミン値は各群間に有意差を認めなかった。
- (2) H_2 RA群の胃体部粘膜ヒスタミン量は、対照の生食群に比較して有意に低値を示した。また、PPI群とCMC群ではPPI群が有意に低かった。
- (3) H_2 RA群の血中ガストリン値は生食群に比較して有意に高値を示した。一方、PPI群はCMC群の8.2倍の有意な高値を示した。またPPI群は H_2 RA群と比べて有意に高かった。
- (4) H_2 RA群の胃内pHは生食群と比較して有意に高値であった。一方、PPI群とCMC群ではPPI群の方が有意に高値であった。また、PPI群は H_2 RA群と比べて有意に高かった。
- (5) H_2 RA群の胃体部粘膜cAMP量は、対照の生食群と比較して有意に低値を示した。また、PPI群とCMC群ではPPI群が有意に低かった。

また、PPI群では H_2 RA群に比べて有意に低下していた。

- (6) 胃体部粘膜ヒスタミンの免疫組織学的検討では、生食群およびCMC群では、細胞質に多数の顆粒状の陽性染色像を有する細胞を胃体部粘膜腺底部に認めたが、腺内腔とは接していなかった。一方、 H_2 RA群およびPPI群では対照と比べてヒスタミンの反応が弱かった。
- (7) 胃体部粘膜cAMPでは生食群およびCMC群の胃体部粘膜腺頸部および腺体部を中心にcAMP反応陽性細胞を多数みとめた。一方、 H_2 RA群およびPPI群ではそれらの細胞のcAMP反応は生食群およびCMC群に比べて著しく減弱していた。

これらの成績からPPIの胃酸分泌抑制機序はプロトンポンプ阻害作用だけでなくECL細胞内のヒスタミン減少も関与する可能性があり、PPIの胃酸分泌抑制機序において、ECL細胞中のヒスタミンのパラクリンとしての作用が重要であるとの結論を導き出している。

本研究は、胃酸分泌抑制機序について、そのプロトンポンプ阻害薬とヒスタミン H_2 受容体拮抗薬の作用機序を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかったECL細胞の関与について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。