

ラット腺胃の阻血性潰瘍におけるN-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine投与による腸上皮化生発生の実験的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山岸, 満 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7721

ラット腺胃の阻血性潰瘍における N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 投与による腸上皮化生発生の実験的研究

金沢大学医学部外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

山 岸 満

(昭和59年2月17日受付)

腸上皮化生発生のにおける粘膜再生の意義を実験的に検索した。体重100-120gのWistar系雄性ラットの腺胃支配血管を結紮, 胃底腺領域を中心に一部幽門腺領域におよぶ急性胃潰瘍を作成した。このラットにN-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (PNNG) を50 mg/l, 100 mg/lに溶解した飲料水を20週間投与し, 無処置PNNG 100 mg/l 20週間投与と阻血性胃潰瘍PNNG非投与ラットを対照に, 50週目, 70週目の腺胃腸上皮化生を観察した。50週目のテストテープ法によるsucrase活性は阻血性胃潰瘍PNNG投与群で陽性であったが, 無処置PNNG投与群・阻血性胃潰瘍PNNG非投与群では陰性であった。アルシアン・ブルー陽性腺管の出現率は, 胃底腺領域では, 阻血性胃潰瘍PNNG投与群は無処置PNNG投与群より高率で, 幽門腺領域では阻血性胃潰瘍・無処置ともPNNG 100 mg/l投与群は阻血性胃潰瘍PNNG非投与群より高率であった。化生腺管は阻血性胃潰瘍PNNG投与群に4腺管みられ, 幽門腺近傍の小彎幽門腺領域で, 杯細胞と吸収上皮からなっていた。70週目の阻血性胃潰瘍PNNG 100 mg/l投与群では, 化生腺管が全例にみられ, 腺管数も多く幽門腺領域, 胃底腺領域の幽門腺との境界部limiting ridge近くと広範で, 化生腺管にはPaneth細胞もみられた。このような成績は, PNNGによるラット腺胃腸上皮化生は胃粘膜再生部位に発生しやすいことを示している。

Key words 腸上皮化生, N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine,
阻血性胃潰瘍

胃固有粘膜が杯細胞やPaneth細胞をそなえた腸型上皮におきかわる現象を腸上皮化生と呼んでいる。

腸上皮化生が注目されるのは, 胃癌とくに分化型腺癌との密接な関連性にある。

すなわち, 分化型腺癌の周辺粘膜には高率に腸上皮化生がみられ¹⁻⁴⁾, このような胃癌は形態学的に腸上皮化生の性格を有している²⁾。また, 疫学的に胃癌が高率にみられる地域では腸上皮化生の頻度が高く, 逆に胃癌の頻度が低い地域では腸上皮化生も低率で, 胃癌の発生頻度と腸上皮化生のそれには正の相関がある⁵⁻⁸⁾。

腸上皮化生は, 胃癌とともにヒト胃だけにみられる病変で, 試験での作成は困難であった。実験胃癌につ

いては, 1967年杉村らによりN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) の経口投与でラットでの作成が可能となり⁹⁾, ついで犬でも成功¹⁰⁾, 胃癌発生についての幾多の貴重な情報を得られたのは周知のところである。しかし, 腸上皮化生はこの実験胃癌の発生過程ではほとんどみられず, 認めてもきわめて限局した範囲で程度の軽いものであった¹¹⁾。

一方, 腸上皮化生を実験的に作成せんとする試みはこれまでX線照射¹²⁾やN-アルキル-NNG投与¹³⁾¹⁴⁾にみられる。特にN-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (PNNG) 投与によるラット腺胃の腸上皮化生は, PNNGがMNNGの同族体で弱いながら発癌性があ

Intestinal Metaplasia Induced by N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Rats with Ischemic Gastric Ulcer. Mitsuru Yamagishi, Department of Surgery (II) (Director, Prof. Itsuo Miyazaki), School of Medicine, Kanazawa University.

り、投与方法が経口的であることなどで注目される。しかしながら、PNNG 投与による腸上皮化生は、発生日部位が幽門輪近傍の幽門腺領域にかぎられ、化生腺管の数も少なく、尿糖判定用テストテープによる sucrase 活性が陰性であることなどでヒト胃にみられる広範な腸上皮化生とはなお隔りがある。

著者は、ラットに阻血性胃潰瘍を作成、その粘膜修復過程に PNNG を投与し広範な腸上皮化生の発生を試み、粘膜再生と腸上皮化生の関係について知見を得たので報告する。

材料および方法

I. 実験動物および飼料

体重 100-120 g の Wistar 系雄性ラットを用い、オリエンタル MF 固型飼料で飼育した。

II. 阻血性胃潰瘍作成法

24 時間絶食後、エーテル麻酔下に開腹し腺胃支配血管の左胃及び左右胃大網動・静脈を根部で網糸にて 2 重結紮した (Fig. 1)。

術直後は水道水のみを与え、飼料は 24 時間後より投与した。

III. 阻血性胃潰瘍の経過観察

40 匹のラットに阻血性胃潰瘍を作成し術後 2 日目、7 日目、以後 1 週ごとに 7 週まで 4 匹ずつ屠殺・剖検した。観察は腺胃を大彎に沿って切開して粘膜面の性状を記載し、15%ホルマリン固定後 5 mm 巾の小彎に平行な切片としてヘマトキシリン・エオジン染色とアルシアン・ブルー染色による組織学的検索を行った。

IV. 阻血性胃潰瘍ラットへの PNNG 投与による腸上皮化生発生

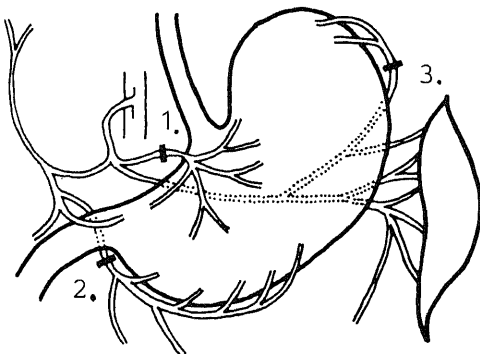


Fig. 1. The schematic drawing of the ligation of three gastric vessels in rats.

1. left gastric vessels; 2. right gastroepiploic vessels; 3. left gastroepiploic vessels.

1. PNNG 投与方法

PNNG は Aldrich 社製を用い、脱イオン水で 50 mg/l と 100 mg/l の濃度に溶解してアルミ箔で遮光したポリエチレン給水瓶に分注し、ラットに *ad libitum* に飲用させた。

2. 実験群

i) 阻血性胃潰瘍ラットへの PNNG 20 週間投与、50 週目の腸上皮化生発生実験

a) 第 1 群

阻血性胃潰瘍ラット 13 匹に手術翌日より 50 mg/l 濃度の PNNG を 20 週間投与し、以後水道水を与えた。

b) 第 2 群

阻血性胃潰瘍ラット 19 匹に手術翌日より第 1 群濃度の 2 倍の 100 mg/l 濃度の PNNG を 20 週間投与し以後水道水を与えた。

c) 第 3 群

無処置ラット 16 匹に 100 mg/l 濃度の PNNG を 20 週間投与し以後水道水を与えた。

d) 第 4 群

阻血性胃潰瘍ラット 10 匹に PNNG 投与を行わず、飲料水として水道水を与えた。

4 実験群とも実験開始より 50 週で屠殺し実験を終了した。

ii) 阻血性胃潰瘍ラットへの PNNG 20 週間投与、70 週目の腸上皮化生発生実験

a) 第 1 群

阻血性胃潰瘍ラット 5 匹に手術翌日より 100 mg/l 濃度の PNNG を 20 週間投与し以後水道水を与えた。

b) 第 2 群

無処置ラット 5 匹に 100 mg/l 濃度の PNNG を 20 週間投与し以後水道水を与えた。

2 実験群とも実験開始より 70 週で屠殺し実験を終了した。

3. 腸上皮化生判定法

i) 尿糖判定用テストテープによる腺胃粘膜 sucrase 活性の検索

対象は、実験 i) の 50 週目腸上皮化生発生実験では第 1 群 7 匹、第 2 群 10 匹、第 3 群 6 匹、第 4 群 6 匹；実験 ii) の 70 週目腸上皮化生発生実験では第 1 群 4 匹、第 2 群 4 匹である。

ラット屠殺後、直ちに胃を摘出し大彎に沿って切開して、粘膜面を損傷せぬよう生食水にて 2 度静かに洗滌後、ガラス板に粘膜面を上展開した。次いで、5% 蔗糖溶液を粘膜面に噴霧し、37.0°C の孵卵器に 5 分間インキュベート後、尿糖判定用テストテープ (塩野義製薬製) を粘膜面に貼布して 2~3 秒後にテストテープが

緑色に変化する部位を陽性とした。

ii) 組織学的検索法

対象は、実験 i) の 50 週目腸上皮化生発生実験では第 1 群 12 匹、第 2 群 18 匹、第 3 群 16 匹、第 4 群 10 匹；実験 ii) の 70 週目腸上皮化生発生実験では第 1 群 4 匹、第 2 群 4 匹で、屠殺全ラットの腺胃である。

腺胃を肉眼的に観察後、15%ホルマリンにて固定し、小彎に平行に 5 mm 間隔に切り出した。組織切片は 5 μ に薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色および pH 2.5 アルシアン・ブルー染色を行い、組織学的に検索した。

成 績

I. 阻血性胃潰瘍の経時的変化

血管結紮直後より、胃底腺領域を中心に一部幽門腺領域におよぶ粘膜が暗赤色となり、2~3 日で同部は開放性潰瘍となった。組織学的には、潰瘍部は粘膜下層までの壊死で、粘膜下層の浮腫と多核白血球・リンパ球を主とする細胞浸潤を認め、U1 1 (粘膜内に限局する潰瘍)、U1 2 (粘膜下層に及ぶ潰瘍) の急性潰瘍の所見であった。1 週間後には、潰瘍辺縁に再生上皮がみられ、3 週以降で潰瘍は癒着化し、6~7 週で治癒した。

再生粘膜は多くは既存の腺組織となったが、潰瘍の中心部及び胃底腺と幽門腺の境界部 limiting ridge では偽幽門腺がみられた。アルシアン・ブルー染色では、3~7 日の潰瘍周辺粘膜にのみ陽性で他は全て陰性であった。

II. 阻血性胃潰瘍ラットへの PNNG 20 週間投与、50 週目の腸上皮化生の発生

1. 腺胃粘膜の肉眼的変化

胃底腺領域の前・後壁に、粘膜のひきつれをとまなう潰瘍癒着を第 1 群 2 匹、第 2 群 3 匹、第 3 群 0 匹、第 4 群 2 匹に認めた。

幽門腺領域には異常を認めなかった。

また腫瘍形成のみられたものはなかった。

2. テステープ法による腺胃粘膜 sucrase 活性

テステープの染色分布により、腺胃全体にテステープが緑色に染まるものを全面型、散在性に染まるものを散在型、一部のみ染まるものを部分型、反応の全くみられないものを陰性型とした (Fig. 2. 3)

第 1 群および第 2 群、すなわち、阻血性胃潰瘍作成後 PNNG 投与群では、腺胃粘膜に sucrase 活性がみられた。その分布は部分型と散在型がほとんどであったが、第 2 群では全面型がみられ、第 1 群にくらべ広範な分布を示すものが多かった。第 3 群・第 4 群では腺胃粘膜の sucrase 活性は全く認められなかった (表

1)。

腺胃粘膜の sucrase 活性陽性率を実験群別にみると、第 1 群 71%、第 2 群 80%、第 3 群 0%、第 4 群 0% で、第 1 群と第 3 群・第 4 群の間に $p < 0.05$ 、第 2 群と第 3 群・第 4 群の間に $p < 0.01$ で有意差を認めた。なお、十二指腸粘膜は全群、全例 sucrase 活性陽性であった。

2. 組織学的所見

第 1 群・第 2 群では、胃底腺領域と幽門腺領域の口側部位に、粘膜筋板の肥厚、粘膜下層の線維組織の増殖、血管の増生・拡張、脂肪組織がみられ、U1 1-2 の潰瘍癒着の所見であった。胃底腺粘膜は潰瘍の中心部、幽門腺との境界部、limiting ridge で偽幽門腺がみられ、胃底腺粘膜領域の狭小化が生じていた。また、壁細胞は数的に減少し、染色性は悪く、萎縮所見と考えられた。アルシアン・ブルー染色では胃底腺の上部 1/3~1/4 に偽幽門腺が陽性であったが、十二指腸の杯細胞にくらべその染色程度は弱かった。幽門腺粘膜は、幽門腺の軽度萎縮と粘膜筋板の肥厚がみられた。アルシアン・ブルー染色では、幽門腺の底部より中部にかけて陽性細胞がみられ、染色程度は中等度より軽度まで多様であった。

第 3 群では、胃底腺粘膜に異常をみず、幽門腺粘膜に軽度の胃炎性変化をみたにすぎない。アルシアン・ブルー陽性細胞は胃底腺の上部 1/3~1/4 に、幽門腺の底部より中部にかけてみられた。

第 4 群では、阻血性胃潰瘍による第 1 群・第 2 群と同様な粘膜筋板・粘膜下層の変化、偽幽門腺化生がみられた。幽門腺粘膜には異常をみなかった。アルシアン

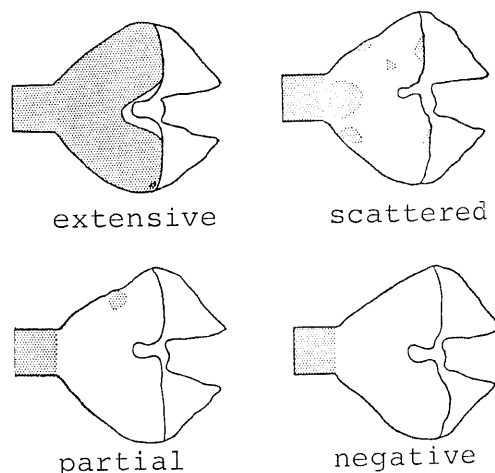


Fig. 2. Types of appearance of sucrase activity by Tes-tape.

: area with sucrase activity.

ン・ブルー陽性腺管は胃底腺領域にはみられず、幽門腺の底部より中部に弱陽性を示したものが1匹みられたにすぎない。

アルシアン・ブルー陽性腺管を指標に、腸上皮化生の出現頻度を胃底腺領域と幽門腺領域に分けると次のようになった(表2)。

胃底腺領域では、胃潰瘍作成後 PNNG 投与の第1群25%、第2群55%、無処置 PNNG 投与の第3群で12%、阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与の第4群で0%で、

第2群は第3群と $p < 0.001$ 、第4群と $p < 0.02$ で有意差があった。幽門腺領域では、第1群50%、第2群83%、第3群62%、第4群10%で、第2群と第4群は $p < 0.001$ 、第3群と第4群は $p < 0.05$ の有意差があった。

アルシアン・ブルー陽性細胞の多くは、腺窩に面する核上部細胞質に粘液を含む円柱上皮で、形態学的には杯細胞とはいえない粘液細胞であった。また、アルシアン・ブルーの染色性は強くなかった。十二指腸粘

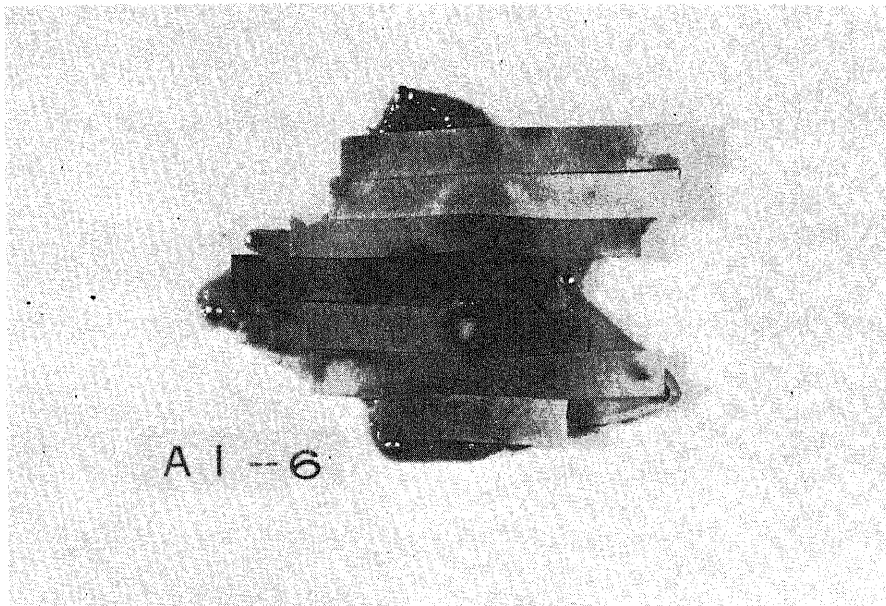


Fig.3. Sucrase activity by Tes-tape in the rat glandular stomach. The rat administered with PNNG for 20 weeks after the ligation of gastric vessels was examined at the 50th week.

Table 1. Incidence of rats with sucrose activity in the glandular stomachs by Tes-tape method at the 50th week

Group No.	Number of rats	Number of rats with sucrose activity in types			Incidence
		extensive	scattered	partial	
I	7		2	3	73%*
II	10	2	5	1	80%**
III	6				0%
IV	6				0%

Groups I and II: administered with PNNG at the concentrations of 50 and 100 mg/l in drinking water, respectively, after the ligation of gastric vessels. Group III: administered with PNNG at the concentration of 100 mg/l in drinking water without operation. Group IV: administered with tap water after the ligation of gastric vessels. Significant differences: * $p < 0.05$ compared with groups III and IV, ** $p < 0.01$ compared with groups III and IV.

膜にみられるような杯細胞が観察されることは稀で、杯細胞をもつ化生腺管は第1群の1匹に2腺管、第2群の2匹に1腺管ずつみられたにすぎない。化生腺管の発生部位は、幽門輪近傍の小彎の幽門腺領域に限られた。化生腺管は杯細胞と刷子縁のある吸収上皮よりなり、Paneth細胞は観察できなかった (Fig. 4)。

なお、癌の発生はいずれの群にもみられなかった。

III. 阻血性胃潰瘍ラットへの PNNG 20 週間投与、70 週目の腸上皮化生の発生

1. 腺胃の肉眼的変化

第1群の2匹に、胃底腺領域の前・後壁に軽度の粘

膜のひきつれをともなう潰瘍瘢痕がみられた。

腫瘍の形成は第1群・第2群とも認められなかった。

2. テステープ法による腺胃粘膜 sucrase 活性

第1群の検索4匹は、全例 sucrase 活性陽性で、全面型3匹と散在型1匹であった。第2群は4匹全例陰性であった。

3. 組織学的所見

アルシアン・ブルー陽性腺管は第1群の4匹では全例、胃底腺・幽門腺いずれの領域にもみられた。第2群の4匹では胃底腺領域に1匹、幽門腺領域に3匹陽性であった。アルシアン・ブルー陽性腺管の存在部位

Table 2. Incidence of rats with metaplastic glands stained with alcian blue of the glandular stomachs at the 50th week

Group No.	Number of rats	Number of rats with metaplastic glands in	
		fundic area	pyloric area
I	12	3 (25%)	6 (50%)
II	18	10 (55%)*	15 (83%)**
III	16	2 (12%)	10 (62%***)
IV	10	0 (0%)	1 (10%)

Groups I—IV: refer to table 1. Significant differences: * $p < 0.001$ and ** $p < 0.02$ compared with group III and IV, respectively. *** $p < 0.001$ compared with group IV, **** $p < 0.05$ compared with Group IV.

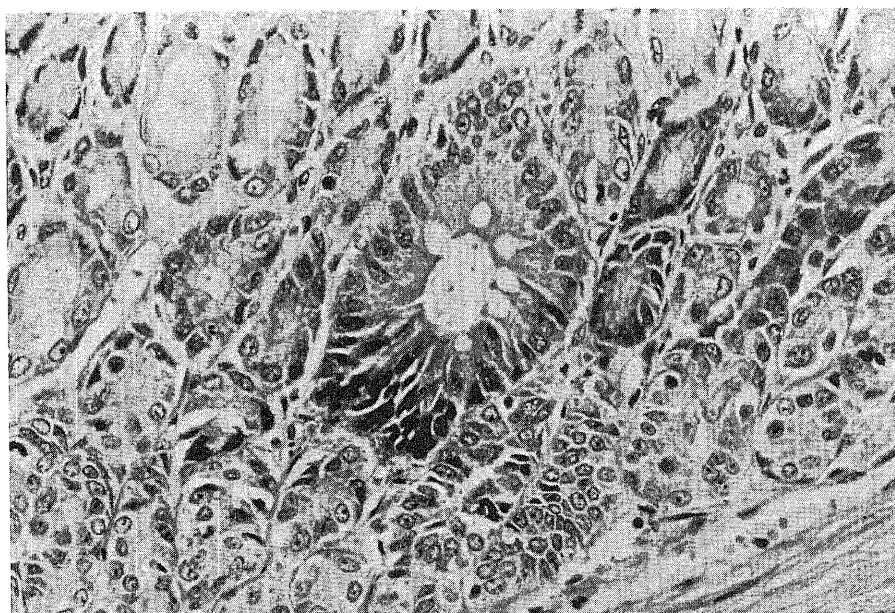


Fig. 4. A metaplastic gland in the antral mucosa of the glandular stomach in a rat. It consists of goblet cells and absorptive cells with striated borders. (At the 50th week in a rat of Group II, H. E. 200×)

は、前述の 50 週目での腸上皮化生の発生の結果と同様であった。

杯細胞を含む化生腺管の出現は、第 1 群では全例にみられ、化生腺管の数は 2～58 個で、50 週目での観察より明らかに多かった。また、化生腺管の発生部位は幽門輪近傍の幽門腺領域に 3 例、胃底腺領域の幽門腺境界部に 1 例、limiting ridge 近くに 2 例みられた。胃底腺粘膜領域の狭小化と壁細胞の萎縮程度は 50 週目での観察と大差はなかった。第 2 群での化生腺管の出現は幽門輪近傍の幽門腺領域に 4 例中 2 例みられた (Fig. 5—Fig. 8)。

化生腺管は、吸収上皮と杯細胞、さらに paneth 細胞より構成されていた (Fig. 9)。

なお、胃癌の発生はみられなかった。

考 察

胃の腸上皮化生はヒトだけにみられる病変で試験ではみられない。

腸上皮化生を実験的に作成しようとする試みは、腸上皮化生の本態、さらに胃癌との関連を解明するうえに重要な示唆を与えらると思われる。

これまでの腸上皮化生の作成方法には、大別して放射線照射と発癌物質の投与がある。

放射線照射による作成では、Capoferro はモルモッ

トに 1540 rad 照射で 3～5 週後に胃粘膜にテスト法で sucrase 活性を認めている。しかし、sucrase 活性部の病理組織像は通常の腸上皮化生像を示したのは 1 例で、他の多くは未熟な再生上皮であったとしている¹²⁾。また、渡辺らは Wistar 系ラットに 500 rad を連日 6 回、合計 300 rad 照射し、幽門腺領域に形態学的に杯細胞と異なるがアルシアン・ブルー、パス陽性細胞群と陽型上皮をもつ腺窩を認め、腺窩下部に paneth 細胞の出現をみている¹⁵⁾。

発癌物質の投与による腸上皮化生の発生に Wong らは、マウスに methylchoranthrene を飲用させると、胃粘膜が腸型の粘液分泌腺に変化することをみている¹⁶⁾。MNNG のラットへの経口投与では、杉村らは 1 年間の投与で paneth 細胞をもつ腸上皮化生を少数ながら観察しており¹¹⁾、さらに松倉らは MNNG の短期投与で杯細胞・刷子縁をもつ円柱上皮、Paneth 細胞よりなる化生腺管の出現を報告している¹⁴⁾。また、笹島は MNNG の同族体で、発癌性の弱い PNNG を 59.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度でラットに経口投与し、15 カ月後に幽門輪近傍の幽門腺領域にのみ、杯細胞と刷子縁を有する円柱上皮からなる化生腺管の出現を観察している¹³⁾。この方法では Paneth 細胞はごく一部の化生腺管の底部にみられ、テスト法による sucrase 活性は陰性である。松倉はさらに PNNG の濃度を 100 $\mu\text{g/ml}$ に



Fig. 5. Intestinal metaplasia in the antral mucosa of the glandular stomach of rat. Several metaplastic glands are seen in the pyloric glands. (At the 70th week in a rat of Group II, H. E. 100 \times)

上げ経時的観察し、19週目に腸上皮化生を認め、時間の経過とともにその出現頻度は上昇し、69週で高分化腺癌を88週では腸上皮化生を100%にみられたとしている¹⁷⁾。

以上の実験的な腸上皮化生の作製法の中で、PNNGの経口投与によるものはヒトの腸上皮化生発生と近似している可能性があり、注目されるところである。すなわち、PNNGは自然界の食物中に存在するとの報告

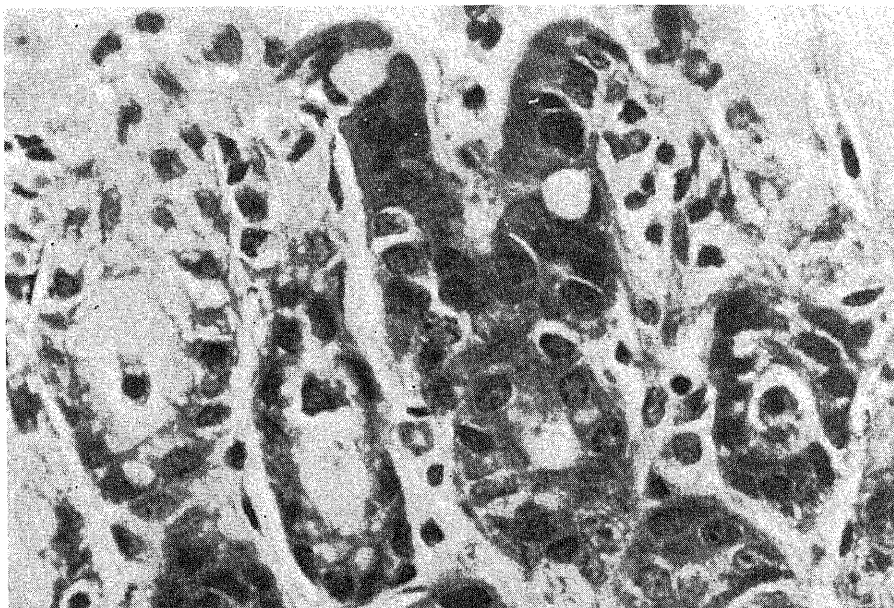


Fig. 6. High power view of intestinal metaplasia seen in Fig. 5. Goblet cells are seen in the metaplastic gland. (H. E. 300×)

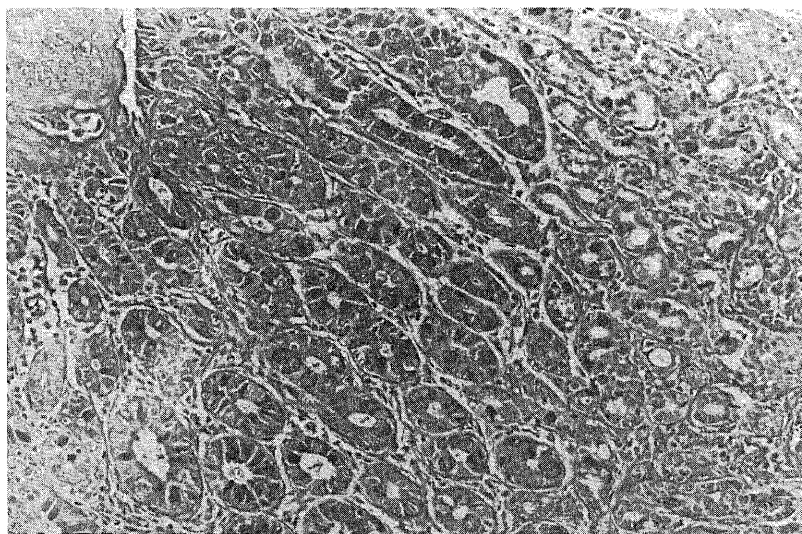


Fig. 7. Intestinal metaplasia in the fundic mucosa near the limiting ridge of the glandular stomach in a rat. It consists of the glands with goblet cells, absorptive cells and Paneth cells. (At the 70th week in a rat of Group II, alcian blue, pH 2.5 100×)

はないが、食物中に多量に含まれる二級アミンと亜硝酸が胃腔内で胃酸の存在下で、また無酸胃液の状態では繁殖したバクテリアの作用で反応し、ニトロソアミンが生成されることが判明しているからである¹⁸⁾¹⁹⁾。これまでの PNNG 投与によるラット胃の腸上皮化生は、発生範囲が幽門輪近傍の幽門腺領域に局限し、化生腺管数も少なく、テストープ法による sucrase 活性も陰性でヒトの腸上皮化生との間には大きな隔りがみ

られる。

教室の石黒らは、著者と同じ阻血性胃潰瘍を作成、その修復過程に MNNG を投与している。その成績は、胃潰瘍部に一致して癌と腸上皮化生が高率に発生し、再生粘膜には MNNG が作用しやすいと結論している²⁰⁾²¹⁾。この時の化生腺管は杯細胞と刷子縁をもつ円柱上皮で、Paneth 細胞がみられ、MNNG 20 週投与後 20 週目屠殺の短期観察で高率に腸上皮化生の発生を

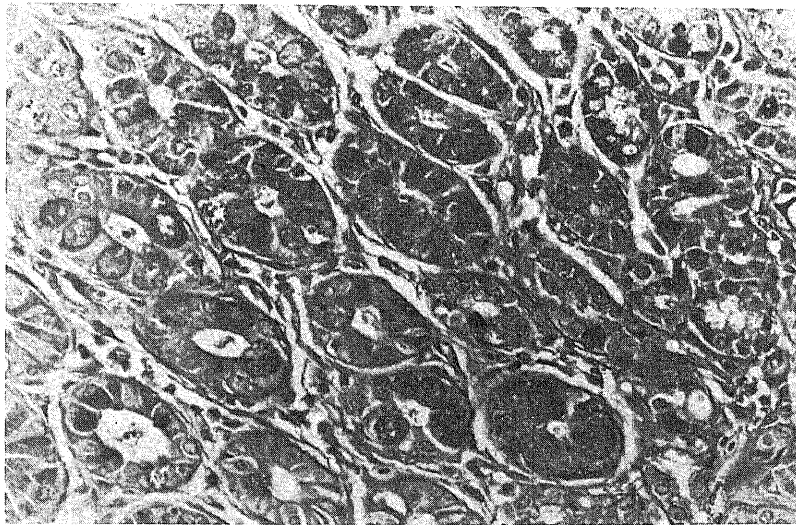


Fig. 8. High power view of intestinal metaplasia seen in Fig. 7. Goblet cells deeply stained with alcian blue are seen in metaplastic glands. (Alcian blue, pH 2.5, 200×)

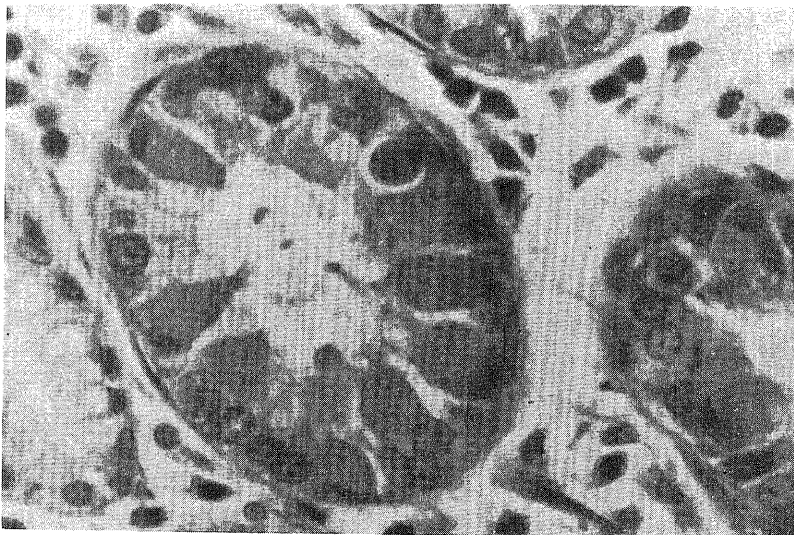


Fig. 9. Paneth cells seen in the same field as in Fig. 7. (H. E. 400×)

みている。

著者は、石黒らの方法に準じて PNNG を投与し、広範なラット腺胃腸上皮化生の作成を試みた。

テストープを用いた sucrase 活性による腸上皮化生の検出法は、杉村らの考案による²²⁾。sucrase は腸に特異的な酵素でヒト胃では sucrase 腸性領域と組織学的腸上皮化生の範囲はよく一致する。著者の実験では、PNNG の単独投与や阻血性胃潰瘍作成だけでは、笹島の報告のごとく sucrase 活性は全く認められなかった。一方、阻血性胃潰瘍に PNNG を投与したラットにおいては sucrase 活性は幽門腺・胃底腺いずれの領域にもみられ、PNNG の高濃度群と観察期間の長い群に広範な活性をみるものが多い傾向がうかがえた。しかしながら、sucrase 活性腸性領域の組織所見は腸上皮化生ではなく、ヒト腸上皮化生の場合とは著しく異なっていた。このような現象は Capoferro¹²⁾、渡辺²³⁾の放射線照射による腸上皮化生発生実験でもみられている。

アルシアン・ブルーは腸上皮杯細胞粘液を強染し、ヒトの腸上皮化生においては杯細胞化生の特異的なマーカーとして染色に用いられている。しかし、PNNG 投与のラット腺胃でみられたアルシアン・ブルー陽性細胞は、多くは核上部細胞質に粘液をもつ円柱上皮であった。この粘液量には多寡がみられ、かつ染色程度も様々で、中には杯細胞に似たものも含まれるが、形態学的には杯細胞とは区別されるものがほとんどであった。かかる杯細胞とはいえないアルシアン・ブルー陽性細胞の出現は、放射線照射による腸上皮化生の発生過程でも観察されている¹⁵⁾。著者の実験群でのアルシアン・ブルー陽性腺管の出現は、阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与の対照群では幽門腺領域に 10 例中わずかに 1 例みただけに対し、PNNG 投与群には高率で、とりわけ阻血性胃潰瘍作成群では胃底腺領域での頻度が高かった。

PNNG 20 週投与ラットの 50 週目での組織学的な腸上皮化生腺管は、阻血性胃潰瘍作成後 PNNG 投与群に 3 腺管みられた。腺管の構成細胞は杯細胞と刷子縁をもつ吸収上皮で、Paneth 細胞はみられなかった。腺管の発生部位は幽門輪直前の幽門腺領域だけで笹島の報告と一致した¹³⁾。阻血性胃潰瘍作成後 PNNG 20 週投与の 70 週目の観察では、化生腺管の数は著しく増加し、発生部位も幽門輪近傍のみでなく、胃底腺と幽門腺の境界部 limiting ridge 近くにもみられ、Paneth 細胞の出現をみた。

ヒト腸上皮化生の組織像は、典型的には杯細胞・吸収上皮・Paneth 細胞より構成されている。しかし、Paneth 細胞をもたない腸上皮化生もあり、酵素学的

な検索が進むにつれ、腸上皮化生にはいろいろな不全型があることが明らかになってきた。安部らは、Paneth 細胞のない腸上皮化生腺管を大腸性、Paneth 細胞のある腺管を小腸型に分類し、小腸型を酵素パターンより小腸と同一のものを完全型、非定型のものを不完全型と細分類している²⁴⁾。河内らは、小腸上皮細胞の指標酵素の発現の立場から腸上皮化生を 2 型に分類、type I は sucrase, maltase, trehalase, alkaline phosphatase, 杯細胞, Paneth 細胞が存在し完全型といえるもの。type II は sucrase, maltase が存在するが、alkaline phosphatase, trehalase が欠如し杯細胞はみられるが、Paneth 細胞はみられないもので不完全型といえるものである²⁵⁾。これらの頻度は、約 1/3 は完全型、約 1/3 は不完全型、のこりの約 1/3 は完全型と不完全型の混合型であるという。このような成績は、ヒト腸上皮化生には種々の段階があることを示している。

著者の実験的腸上皮化生の発生過程をみるに一連の発生順序が存在する。すなわち、腸上皮化生の発生はまず sucrase 活性とアルシアン・ブルー腸性腺管の出現に始まり、次いで杯細胞と吸収上皮からなる化生腺管がみられ、最後に Paneth 細胞が観察されている。この腸上皮化生発生の経過は、放射線照射による腸上皮化生でも同様で、渡辺は酵素学的変化が最初に現れ、ついで杯細胞、最後に Paneth 細胞がみられるようになる²³⁾と述べている。

腸上皮化生の発生について、Moscowicz は慢性胃炎を胃粘膜の損傷とその修復としてとらえ、修復能力の最も低下した状態で腸上皮化生をみるとしている²⁶⁾。また、佐野も腸上皮化生を固有胃腺の再生能力の低下にともなう低価値の再生の姿とみている²⁷⁾。大原は、胃粘膜の再生上皮は一度、先祖帰りの現象として腸上皮の性格をおび、それから固有胃粘膜に分化していくか、あるいはそのまま腸上皮化生粘膜として残存するようになる²⁸⁾²⁹⁾と考えている。渡辺は、腸上皮化生の発生要因の一つとして壁細胞の萎縮にともなう慢性的な胃内酸度の低下をあげている¹⁵⁾。また河内は MNNG の短期投与や弱い発癌物質の投与で腸上皮化生が発生することより、腸上皮化生は単純な再生のくり返しで起るのではなく、MNNG や PNNG により引き起こされる変化、つまり細胞の genetic material の変化が原因である可能性が強いとしている³⁰⁾。

著者が、PNNG 投与前に行った阻血による胃潰瘍は胃底腺領域、一部幽門腺領域におよぶ UI 1-2 の急性潰瘍であった。この潰瘍は治癒しても腸上皮化生は発生しなかった。しかし、潰瘍の粘膜修復過程に PNNG を投与すると潰瘍部に一致して腸上皮化生の発生をみ

た、PNNG 単独投与では潰瘍作成部位に腸上皮化生をみないことより、胃粘膜の再生に PNNG は作用しやすいと結論された。

以上の成績は、胃粘膜の再生に弱い発癌物質が作用することで腸上皮化生が発生する可能性を示唆している。

結 論

著者は、ラット腺胃の支配血管結紮による阻血性胃潰瘍の修復過程に PNNG を 20 週間投与、実験開始より 50 週目、70 週目に生ずる腺胃の腸上皮化生を検索し、以下の成績が得られた。

1. 腺胃支配血管による阻血性胃潰瘍は、胃底腺領域、一部幽門腺領域におよぶ U1 1-2 の急性潰瘍で 6~7 週で治癒した。

2. 50 週目でのテストテープ法による sucrase 活性腸性率は、阻血性胃潰瘍 PNNG 50 mg/l 投与群 71%、同じく PNNG 100 mg/l 投与群 80% で、無処置 PNNG 100 mg/l 投与群・阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与群では活性は認められなかった。

3. 50 週目での胃底腺領域でのアルシアン・ブルー陽性腺管の出現率は、阻血性胃潰瘍 PNNG 50 mg/l 投与群 25%、同じく PNNG 100 mg/l 投与群 55%、無処置 PNNG 100 mg/l 投与群 12%、阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与群 0% で、阻血性胃潰瘍 PNNG 100 mg/l 投与群は無処置 PNNG 100 mg/l 投与群・阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与群より高かった。

4. 50 週目での幽門腺領域でのアルシアン・ブルー陽性腺管の出現率は、阻血性胃潰瘍 PNNG 50 mg/l 投与群 50%、同じく PNNG 100 mg/l 投与群 83%、無処置 PNNG 100 mg/l 投与群 62%、阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与群 10% で、阻血性胃潰瘍 PNNG 100 mg/l 投与群および無処置 PNNG 100 mg/l 投与群は阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与群より高かった。

50 週目での化生腺管の出現は、阻血性胃潰瘍 PNNG 50 mg/l 投与 1 匹に 2 腺管、同じく PNNG 100 mg/l 投与 2 匹に 1 腺管ずつみられた。化生腺管の発生部位は、幽門輪近傍の小彎の幽門腺領域に限局し、化生腺管は杯細胞と吸収上皮より構成されていた。無処置 PNNG 100 mg/l 投与群・阻血性胃潰瘍 PNNG 非投与群には化生腺管の出現をみなかった。

6. 70 週目では、阻血性胃潰瘍 PNNG 100 mg/l 投与群は sucrase 活性、アルシアン・ブルー陽性腺管・化生腺管は 4 匹すべてにみられた。化生腺管の数は 2~58 個、発生部位は幽門腺領域だけでなく、胃底腺領域の幽門腺との境界部、limiting ridge 近くと広範囲にみられた。化生腺管は、杯細胞と吸収上皮、さらに

Paneth 細胞より構成されていた。

これらの成績は、PNNG 投与によるラット腸上皮化生は胃粘膜再生部位に発生しやすく、その発生過程には、まず sucrase 活性・アルシアン・ブルー陽性腺管、次いで杯細胞と吸収上皮、最後に Paneth 細胞が出現する段階があることを示している。

稿を終るにあたり、御指導・御校閲を頂いた宮崎逸夫教授に心からの謝意を表します。また、終始、直接御指導・御教示下さった福井医科大学第 1 外科、三輪晃一助教授に深く感謝致します。また、病理学的検索に御教示を頂きました金沢大学第 1 病理学、中西功夫教授に深甚の謝意を表します。(本論文の要旨は、第 66 回日本消化器病学会・第 39 回日本癌学会・第 37 回胃癌研究会にて発表した。)

文 献

- 1) Nagayo, T. & Komagoe, T.: Histological studies of gastric mucosal cancer with special reference to relationship of histological pictures between the mucosal cancer and the cancer-bearing gastric mucosa. *Gann*, 52, 109-119 (1961).
- 2) 中村恭一・菅野晴夫・高木國夫・熊倉賢二: 胃癌の組織発生——原発性微小胃癌を中心とした胃癌の光顕・電顕的ならびに統計的研究——。癌の臨床, 15, 627-647 (1969).
- 3) 山際裕史: 発生——進展からみた早期胃癌の病理学的検討——。癌の臨床, 15, 970-978 (1969).
- 4) Lauren, P.: The two histological main types of gastric carcinoma. Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Path. et microbiol. Scand*, 64, 31-49 (1965).
- 5) 久保利夫: 胃の「腸上皮化生」の疫学。胃の腸上皮化生 (竹本忠良・川井啓市・井田和徳・鈴木 茂編), 27-47 頁, 医学図書出版, 東京, (1981).
- 6) Cuello, C., Correa, P., Haenszel, W., Gordillo, G., Brown, C., Archer, M. & Tannenbaum, S.: Gastric cancer in Colombia. I. Cancer risk and suspect environmental agents. *J. Natl. Cancer Inst.*, 57, 1015-1020 (1976).
- 7) Haenszel, W., Correa, P., Cuello, C., Guzman, N., Burbano, L. C., Lores, H. & Munõz, J.: Gastric cancer in Colombia. II. Case-control epidemiologic study of precursor lesions. *J. Natl. Cancer Inst.*, 57, 1021-1026 (1976).
- 8) Correa, C., Cuello, C., Duque, E., Burbano, L. C., Garcia, F. T., Bolanos, O., Brown, C. & Haenszel, W.: Gastric cancer in Colombia. III. Natural history of precursor lesions. *J. Natl. Cancer Inst.*, 57, 1027-1035 (1976).

- 9) Sugimura, T. & Fujimura, S.: Tumour production in glandular stomach of rat by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Nature*, **216**, 943-944 (1967).
- 10) Sugimura, T., Tanaka, T., Kawachi, T., Kogure, T., Fujimura, S. & Shimozaoto, Y.: Production of stomach cancer in dogs by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, **62**, 67 (1971).
- 11) Sugimura, T., Fujimura, S., & Baba, T.: Tumour production in the glandular stomach and alimentary tract of the rat by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res*, **30**, 455-465 (1970).
- 12) Capoferro, R.: Intestinal metaplasia in experimental atrophic gastritis. Sucrase activity in the gastric mucosa of guinea-pigs after stomach irradiation. *Scand. J. Gastroent*, **7**, 711-712 (1972).
- 13) 笹島耕二: N-プロピル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (PNNG) による実験的腸上皮化生の作成, *日消誌*, **76**, 50-53 (1979).
- 14) Matsukura, N., Kawachi, T., Sasajima, K., Sano, T., Sugimura, T. & Hirota, T.: Induction of intestinal metaplasia in the stomach of rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J. Natl. Cancer Inst*, **61**, 141-144 (1978).
- 15) 渡辺敦光・広瀬文男・寺田和貴・下久正満・滝沢韶一: Wistar ラットに X 線照射により生じた完全型腸上皮化生, *医学のあゆみ*, **99**, 135-137 (1976).
- 16) Wong, T. W., Juras, D. S. & Wissler, R. W.: Effect of concurrent feeding of Tween 80 on the carcinogenicity of orally administered 3-methylchoranthrene. *J. Natl. Cancer Inst*, **22**, 363-399 (1959).
- 17) 松倉則夫: N-プロピル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンによる実験腸上皮化生の発生過程の解析と実験胃癌, *日消誌*, **76**, 1253-1258 (1979).
- 18) Sander, J., Schweinberg, F. und Menz, H.: Untersuchung über die Entstehung cancerogener Nitrosamine in Magen. *Hoppe Seyler. Z. Physiol. Chem*, **349**, 1691-1697 (1968).
- 19) Ruddel, W. S. J., Bone, E. S., Hill, M. J., Blendis, L. M. & Walters, C. L.: Gastric-juice nitrite. A risk factor for cancer in the hypochlorhydric stomach? *The Lancet*, November, **13**, 1037-1039 (1976).
- 20) 石黒信彦: 潰瘍癌及び腸上皮化生の発生に関する実験的研究. *十全医会誌*, **88**, 831-848 (1979).
- 21) 石黒信彦・三輪晃一・宮崎逸夫: ラット阻血性胃潰瘍に対する MNNG 投与による胃癌と腸上皮化生の発生, *医学のあゆみ*, **108**, 658-659 (1979).
- 22) Sugimura, T., Kawachi, T., Kogure, K., Tanaka, N., Kanama, S. & Koyama, Y.: A novel method for detecting intestinal metaplasia of the stomach with Tes-tape. *Gann*, **62**, 237-238 (1971).
- 23) Watanabe, H.: Experimentally induced intestinal metaplasia in wistar rats by X-ray irradiation. *Gastroenterology*, **75**, 796-799 (1979).
- 24) 安部宗顕・大内伸夫・赤松昌亮・松本高明: 腸上皮化生の酵素組織化学. *胃と腸*, **6**, 875-880 (1969).
- 25) Kawachi, Y., Kurisu, M., Numanyu, N., Sasajima, K., Sano, T. & Sugimura, T.: Precancerous changes in the stomach. *Cancer Res*, **36**, 2673-2677 (1976).
- 26) Moscowicz, L.: Regeneration und Krebsbildung an der Magenschleimhaut. *Grundlagen einer biologischen Krebstheorie*. *Arch. Klin. Chir. Langenbecks*, **132**, 558-620 (1924).
- 27) 佐野量造: 胃と腸の臨床病理ノート, 177 頁, 医学書院, 東京, (1977).
- 28) 大原 毅: ラットにおける実験的慢性胃潰瘍, 癌の臨床, **17**, 457-464 (1977).
- 29) 大原 毅・宮国泰斗・藤間弘行・高野義一: 胃のいわゆる前癌状態——腸上皮化生と胃潰瘍再生上皮——, 癌の臨床, **27**, 953-960 (1981).
- 30) 河内 卓: 腸上皮化生と胃癌の発生, *代謝*, **14**, 919-926 (1977).

Intestinal Metaplasia Induced by N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Rats with Ischemic Gastric Ulcer Mitsuru Yamagishi, Department of Surgery (II) (Director, Prof. I. Miyazaki), School of Medicine, Kanazawa University Kanazawa 920 — J. Jusen Med. Soc., **93**, 304—315 (1984)

Key words: Intestinal metaplasia, N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, Ischemic gastric ulcer

Abstract

Experimental studies were performed to investigate the relevance of the regeneration of mucosa in the glandular stomach to the emergence of intestinal metaplasia.

A total of 58 Wistar strain male rats weighing 100–200g were used. They were sorted into Groups I, II, III and IV; Their three gastric vessels of Groups I, II and IV were ligated in order to produce an acute gastric ulcer, which occurred mainly in the fundic area and partly in the antral area; Group III was unoperated rats. Different treatment was given to each group for 20 weeks: deionized water containing N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(PNNG) was administered to Group I and Groups II & III at concentration of 50mg/l and 100mg/l respectively; tap water was administered to Group IV.

Observation of intestinal metaplasia in the glandular stomach and comparisons among the four groups were made, 50 weeks after the experiment. The same observation was repeated only to the rats of Group II 70 weeks after the experiment. At the 50th week, sucrase activity of the mucosa in the glandular stomach was examined by the Tes-tape method. Groups I and II were positive, whereas Groups III and IV negative. The incidence of alcian blue positive glands in the fundic area was higher in Group II than in Group III or Group IV. The incidence in the antral area was higher in Group II or Group III than in Group IV. Four metaplastic glands were found in Groups I and II. They were located in the prepyloric portion in the antral area, consisting of goblet cells and absorptive cells. At the 70th week in Group II, many metaplastic glands were observed in each rat. They were located in a rather extensive area, i.e., not only in the antral area but also in the border area between the fundic area and the antral area and in the area near the limiting ridge. In the metaplastic glands, Paneth cells were also observed.

These data suggest that the intestinal metaplasia of the glandular stomach in rats induced by PNNG emerges in the area of the regeneration of the mucosa of the glandular stomach.