

## 薬物投与時および潰瘍時のラット胃排出

谷 覚,\* 山崎 浩, 武藤徳男

城西大学薬学部

## Gastric Emptying in Chemical-administered and Ulcerated Rats

SATORU TANI,\* HIROSHI YAMAZAKI, and NORIO MUTO

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University,

Keyakidai 1-1, Sakado, Saitama 350-02, Japan

(Received June 30, 1982)

We improved a measurement of gastric emptying in rat, in which the remaining of the gastric contents was estimated as amounts of quinaldine red mixed with the given test meal. The following results were obtained by using this method; when chemicals were injected subcutaneously, gastric emptying was significantly facilitated by carbamylcholine and bombesin under both anesthetized and conscious conditions, and delayed by isoproterenol under both conditions. Carbamylcholine-induced facilitation in anesthetized rats was inhibited by atropine, and isoproterenol-induced suppression in conscious rats was inhibited by propranolol. However, histamine and norepinephrine did not affect gastric emptying. Tannic acid or oxethazaine which was orally administered with the test meal, caused a suppression of gastric emptying. Acidification or neutralization of the test meal by HCl or Al(OH)<sub>3</sub> did not affect gastric emptying. It seems that gastric emptying was suppressed in the acetic acid gastric ulcer in the rat, but it was facilitated in the duodenal ulcer.

**Keywords**—gastric emptying; rat; quinaldine red; experimental ulcer; carbamylcholine; isoproterenol; oxethazaine; tannic acid

## 緒 言

胃の機能は摂取された食物を消化するために胃液を分泌し、蠕動運動により胃液と共に混合し、それを十二指腸へ送り出す胃排出という3つの要素から成っている。しかし現在この胃の運動、分泌、排出の総合的な把握はほとんどなされていない。胃の機能を正常に維持するためにはこれら3つの要素をバランス良く保つ必要があり、胃疾患はこれら個々の要素の亢進や低下などの異常が生じていると考えられる。

一般に胃潰瘍と十二指腸潰瘍とは種々の点で異なった疾患だと言われている<sup>1)</sup>ので、それぞれの潰瘍時における胃排出を測定し両疾患の相異を検討した。

我々は胃分泌および胃運動に関して種々の検討を重ねてきたが、今回胃機能の総合的把握の一環として胃排出能の検討を行った。従来行われてきた多様な胃排出能の検査法には、phenol redなどの色素を用いその量を定量する方法<sup>2)</sup>や試験食にアイソトープを標識し胃排出能を測定する方法<sup>3)</sup>などが用いられている。また胃排出能において固型食と流動食とでは、一般にかなりの違いがあると言われている。<sup>3b)</sup>我々は実験手技として可能な液体飼料を用い、動物に胃チューブで注入し一定時間後に残留量を求め算出する方法<sup>4)</sup>に、若干の改良を加えた方法を用いた。

我々は以前に酸分泌を刺激する薬物を用いて胃酸分泌と胃運動との関係を検討した。<sup>5)</sup>今回は胃運動に影響を及ぼす薬物と胃排出との関連性について意識下および麻酔下のラットを用いて検討した。またその結果より、胃排出に対して有意に影響を及ぼした薬物についてその遮断薬と共に投与した場合の胃排出に対する作用を検討した。さらに経口的に投与してその効果を期待する薬物の胃排出に対する影響を調べてみたので、これらの結果を報告する。

### 実験方法および試薬

**胃排出の測定** 一昼夜絶食した体重 200 g 前後の Wistar 系雄ラットに 0.01% quinaldine red を含む試験食を 1.0 ml 経口投与した。薬物は試験食投与と同時に皮下投与し、麻酔下においてはさらに pentobarbital Na 30 mg/kg を同時に腹腔内投与した。胃粘膜に直接作用する薬物については試験食に混合して経口投与した。試験食投与 60 分後、幽門部および噴門部を結紮して胃を取り出し胃内容物を採取しエタノールで洗い出し液量を 10 ml とした。十分に攪拌し quinaldine red をエタノール溶液とした後、12000 rpm で 15 分間遠心しその上澄をエタノール液を対照として 530 nm で比色定量した。0.01% quinaldine red を含む試験食 1.0 ml を同様に操作したものの吸光度を 100% として各サンプルの胃内残存率を算出した。

Quinaldine red の回収率の算出に際しては Shay<sup>6)</sup> の原法に準じた幽門結紮ラットを用い、幽門部結紮後 1.0 ml の試験食を与え、60 分後に前述と同様に処理した。

**病態動物の作製** ストレス——高木ら<sup>7)</sup> の方法に準じ、試験食投与直後に 23°C の水槽に浸し 60 分間ストレス負荷を与えた。

**酢酸潰瘍**——高木ら<sup>8)</sup> の方法に準じ 20% 酢酸溶液 0.015 ml を胃壁内に注入して作製し一週間後に使用した。Ulcer index (U.I.) は面積 (mm<sup>2</sup>) として算出した。

**十二指腸潰瘍**——岡部ら<sup>9)</sup> の方法に準じ内径 6 mm の円形の枠を十二指腸漿膜上に当て 100% 酢酸溶液 0.06 ml を 30 秒間注いで作製し一週間後に使用した。

**試薬** Pentagastrin <住友化学工業>, carbamylcholine chloride, phenoxybenzamine hydrochloride, quinaldine red <東京化成工業>, histamine dihydrochloride, atropine sulfate (monohydrate) <和光純薬工業>, L-norepinephrine bitartrate, DL-isoproterenol hydrochloride, DL-propranolol hydrochloride <シグマ>, bombesin <ペプチド研究所>, pentobarbital Na <アポットラポラトリーズ>, aluminum hydroxide, tannic acid <小宗化学薬品>を用いた。Oxethazaine はエーザイより提供を受けた。流動食<sup>10)</sup> <オリエンタル酵母>に quinaldine red を均一に混合し試験食として用いた。

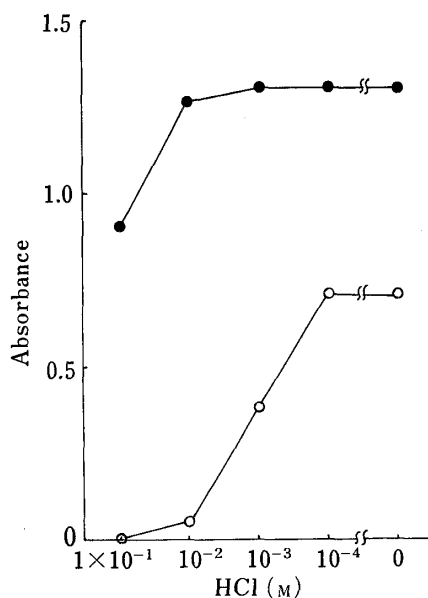


Fig. 1. Changes in Optical Density of Quinaldine Red by Various Kinds of HCl Concentration

Each absorbance of 10  $\mu$ g/ml of quinaldine red in 90% ethanol or water containing indicated HCl concentration was measured at its absorption maximum.

●—●:  $\Delta A$  530 nm in 90% ethanol,  
○—○:  $\Delta A$  500 nm in water.

### 結 果

#### Quinaldine Red の水溶液およびエタノール溶液中での塩酸による吸光度の変化

0.001% quinaldine red を含む水溶液および 90% エタノール溶液中での塩酸による影響を検討しその結果を Fig. 1 に示した。

Quinaldine red は水溶液中で塩酸の濃度に従いその赤色に変化する酸性指示薬としての性質を示すが、90% エタノール溶液中では 0.1 M HCl を含む溶液においてわずかに吸光度の低下が認められたものの 0.01 M HCl 以下での塩酸濃度の影響はほとんどなかった。また常温に数日間放置しても吸光度はほとんど変化しなかった。

Quinaldine red の極大吸収波長は水溶液中で 500 nm にあり、エタノール含有量の増加に伴って移行し 70% 以上では 530 nm であった。

#### Quinaldine Red の回収率

幽門結紮ラットにおいて結紮 60 分後に胃排出における実験と同様に操作し、quinaldine red および phenol red の回収率を求め比較した。Quinaldine red の回収率は 82.1% であり、少し胃から吸収されていることが認められた。Phenol red の場合は、遠心後上澄 1 ml に 1 N NaOH

TABLE I. Effects of Chemicals on Gastric Emptying in Conscious and Anesthetized Rats

Treatment	Dose (s.c.)	Test meal remaining (%) (n)	
		Under conscious	Under anesthesia
Control (0.9% NaCl)	—	38.4 ± 4.7 (16)	55.9 ± 5.2 (7)
Pentagastrin	10 µg/kg	41.4 ± 7.2 (5)	49.6 ± 4.5 (6)
	20 µg/kg	31.7 ± 3.1 (6)	32.3 ± 7.7 <sup>a)</sup> (6)
Histamine	1 mg/kg	33.3 ± 7.3 (5)	37.8 ± 6.4 (10)
	2 mg/kg	42.4 ± 3.9 (5)	40.2 ± 9.3 (7)
Norepinephrine	200 µg/kg	39.9 ± 6.8 (9)	41.3 ± 10.6 (6)
	400 µg/kg	36.8 ± 9.0 (6)	43.5 ± 8.2 (6)
Isoproterenol	200 µg/kg	64.5 ± 3.9 <sup>b)</sup> (9)	70.6 ± 6.5 (5)
	400 µg/kg	70.0 ± 3.6 <sup>b)</sup> (6)	71.9 ± 2.1 <sup>a)</sup> (5)
Carbamylcholine	10 µg/kg	34.0 ± 6.1 (7)	12.5 ± 2.5 <sup>b)</sup> (8)
	20 µg/kg	21.8 ± 5.1 <sup>a)</sup> (8)	10.2 ± 3.8 <sup>b)</sup> (7)
Bombesin	10 µg/kg	15.4 ± 4.2 <sup>a)</sup> (6)	13.4 ± 3.8 <sup>b)</sup> (5)
	20 µg/kg	23.6 ± 3.6 (6)	10.8 ± 2.6 <sup>b)</sup> (5)

Each value is mean ± s.e., and the numbers of experiments are given in parentheses. Significant differences from control are shown as (a) =  $p < 0.05$ , (b) =  $p < 0.01$ .

4 ml を加えて発色させ 560 nm<sup>2a)</sup> で比色定量し回収率を算出すると 59.5% であった。

この結果より phenol red はかなり胃から吸収されることが判明したので、以下の実験では quinaldine red を用いて実験を行った。

#### 意識下および全身麻酔下ラットの胃排出に対する各種薬物の作用

胃運動に影響を及ぼす薬物の胃排出について意識下および pentobarbital 麻酔下において検討しその結果を Table I に示した。

薬物の投与量は通常の静脈投与に要する量の数倍を目安として用い皮下投与した。

意識下においては、対照群と比較し carbamylcholine は 20 µg/kg 投与量で 5% の危険率で有意に胃排出を促進した。逆に isoproterenol は 200 µg/kg および 400 µg/kg 投与量で 1% の危険率で有意に胃排出を遅延させた。また bombesin は 10 µg/kg および 20 µg/kg 投与量で胃排出を促進し、前者では 5% の危険率で有意であった。

全身麻酔下においては、carbamylcholine の 10 µg/kg および 20 µg/kg 投与量で、bombesin の 10 µg/kg および 20 µg/kg 投与量で 1% の危険率で有意に胃排出が促進された。また isoproterenol は 400 µg/kg 投与量で 5% の危険率で有意に胃排出を遅延させ、低用量でもその傾向が認められた。

Histamine および norepinephrine に関しては意識下および麻酔下においてほとんど影響が見られなかった。Pentagastrin に関しては麻酔下での 20 µg/kg 投与量で促進したが、意識下ではほとんど影響が見られなかった。

#### 胃排出に対する交感神経および副交感神経遮断薬の効果

意識下および麻酔下ラットの胃排出に対して有意に影響を及ぼした薬物、すなわち意識下における isoproterenol、麻酔下における carbamylcholine とそれぞれの遮断薬とを同時あるいは単独で投与した場合の胃排出に対する効果を調べ結果を Table II に示した。

麻酔下での carbamylcholine の胃排出に対する作用は atropine の 1 mg/kg および 2 mg/kg 併用によって 1% の危険率で有意に阻害された。また atropine の 2 mg/kg 単独投与では Table I に示した麻酔下の対照群と比較してさらに胃排出を遅延させる傾向が見られた。

意識下における isoproterenol の遅延作用は propranolol の 10 mg/kg 併用によって 1% の危険率で有意に阻害された。しかし propranolol の 10 mg/kg 単独投与では Table I に示した意識下の対照群と比較して胃排出を遅延させる傾向が認められた。また phenoxybenzamine との併用によっては isoproterenol の作用に変化がほとんど見られず、phenoxybenzamine の 10 mg/kg 単独投与でも意識下の対照群と比較して胃排出に対する影響

TABLE II. Effects of Blockers on Gastric Emptying induced by Carbamylcholine and Isoproterenol

Carbamylcholine	Anesthesia		Test meal remaining (%) (n)
	Atropine		
10 $\mu$ g/kg	—		12.5 $\pm$ 2.5 (8)
	1 mg/kg		59.2 $\pm$ 5.4 <sup>a)</sup> (6)
	2 mg/kg		65.4 $\pm$ 4.8 <sup>a)</sup> (7)
	2 mg/kg		69.1 $\pm$ 2.5 (6)
Isoproterenol	Conscious		Test meal remaining (%) (n)
	Propranolol	Phenoxybenzamine	
200 $\mu$ g/kg	—	—	64.5 $\pm$ 3.9 (9)
	5 mg/kg	—	50.6 $\pm$ 7.8 (6)
	10 mg/kg	—	44.4 $\pm$ 5.0 <sup>a)</sup> (5)
—	10 mg/kg	—	52.5 $\pm$ 7.7 (7)
	—	5 mg/kg	77.1 $\pm$ 5.6 (6)
200 $\mu$ g/kg	—	10 mg/kg	75.8 $\pm$ 5.5 (5)
	—	10 mg/kg	32.7 $\pm$ 8.1 (7)

Each chemical was injected subcutaneously at the same time to give the test meal. Each value is mean  $\pm$  s.e., and the numbers of experiments are given in parentheses. Significant differences from control are shown as (a) =  $p < 0.01$ .

TABLE III. Effects of orally Administered Chemicals on Gastric Emptying

Treatment	Test meal remaining (%) (n)
Control	22.9 $\pm$ 3.0 (10)
Tannic acid	
1 %	87.5 $\pm$ 12.5 <sup>b)</sup> (5)
5 %	87.9 $\pm$ 14.4 <sup>b)</sup> (5)
Oxethazaine	
1 %	37.6 $\pm$ 6.8 <sup>a)</sup> (6)
5 %	67.7 $\pm$ 2.2 <sup>b)</sup> (4)
Aluminum hydroxide	
1 %	24.9 $\pm$ 9.0 (5)
5 %	31.3 $\pm$ 6.3 (5)
HCl (pH 2.0)	20.0 $\pm$ 7.2 (5)

Tannic acid, oxethazaine, and Al(OH)<sub>3</sub> was mixed with the test meal at the indicated concentration. HCl expresses the test meal containing hydrochloric acid (pH 2.0). Each value is mean  $\pm$  s.e., and the numbers of experiments are given in parentheses. Significant differences from control are shown as (a) =  $p < 0.05$ , b) =  $p < 0.01$ .

TABLE IV. Gastric Emptying in the Experimental Ulcer Rats and the Stress Rats

Treatment	Test meal remaining (%) (n)
Sham operation	27.5 $\pm$ 4.6 (13)
Gastric ulcer (U.I. = 9.40 $\pm$ 4.62)	35.0 $\pm$ 4.7 (8)
Duodenal ulcer (U.I. = 29.16 $\pm$ 5.99)	21.9 $\pm$ 6.3 (9)
Control	22.9 $\pm$ 3.0 (10)
Stress	29.1 $\pm$ 6.5 (7)

Each value is mean  $\pm$  s.e., and the numbers of experiments are given in parentheses.

はなかった。

#### 経口的に投与する薬物の胃排出に対する影響

経口投与により胃機能に影響を及ぼす薬物について胃排出に対する効果を検討しその結果を Table III に示した。

局所収斂薬である tannic acid は 1% および 5% の濃度で 1% の危険率で有意に胃排出を遅延させ、局所麻酔薬である oxethazaine の 1% 濃度のものは 5% の危険率で、oxethazaine の 5% 濃度のものは 1% の危険率

でそれぞれ有意に胃排出を遅延させた。しかし制酸作用を有する  $\text{Al}(\text{OH})_3$  や  $\text{HCl}$  で酸性 (pH 2.0) にした試験食の胃排出に対する影響はほとんど認められなかった。

#### 実験的胃、十二指腸潰瘍およびストレス負荷ラットにおける胃排出

胃、十二指腸疾患と胃排出との関連性を調べるために胃、十二指腸潰瘍を作製したラットと、胃潰瘍の原因と考えられるストレス負荷を与えたラットについて検討した。胃、十二指腸潰瘍には酢酸潰瘍を用い擬手術を行ったラットを対照として、また前潰瘍状態としては水浸拘束ストレスの1時間目をい意識下ラットを対照として胃排出を測定した。その結果を Table IV に示した。

胃、十二指腸潰瘍時における胃排出には共に有意な影響が認められなかったが、それぞれ胃潰瘍は遅延、十二指腸潰瘍は促進させる傾向が見られた。またストレスにおいても胃排出に対する影響はほとんど認められなかった。

### 考 察

今回我々が確立した胃排出測定法は試験食中に均等に混合されている quinaldine red をエタノールで抽出するので、試験食に含まれる水溶性物質が沈殿物として除去できるという利点がある。しかし糞食したラットではその色素が抽出されるためこの方法を用いることができない。さらに胃排出に対して糞食そのものが影響を及ぼすので、糞食したラットのデータは除去する必要がある。また quinaldine red のエタノール溶液中での色調がヘモグロビン (特にヘミン) によって減少することが認められたので、実験操作中に血液が混入しないようにすることが必要である。しかし quinaldine red は塩基性の物質であり、しかも胃からの吸収は回収率の項で明らかかなように今までよく用いられてきた phenol red に比べて少ないので、この胃排出測定法は極めて有用な方法だと考えられる。

我々はすでに酸分泌と胃運動との関係について検討し報告した。<sup>5)</sup> 今回はそのうちの胃運動と関係が深いと言われている胃排出とに重点を置き、胃運動に影響を及ぼした薬物を用いて実験を行った。胃運動に関して carbamylcholine は胃を収縮させ、isoproterenol は弛緩させ、histamine は弛緩後収縮させる。さらに pentagastrin は弛緩させるがタキフィラキシーをひき起こした。胃排出に対するこれらの薬物の影響は carbamylcholine が胃排出を促進させ、isoproterenol が遅延させた。このことから胃の排出と運動の間には強い関連性があると考えられる。しかし histamine による胃の排出と運動との関係は複雑であり、<sup>11)</sup> 我々の実験でも明確な結論はまだ出せない。また pentagastrin は高用量で胃排出を促進させたが、この結果と pentagastrin の胃運動に対する作用とを結びつけることはできなかった。Pentagastrin が胃排出を遅延させるという報告<sup>2a,12)</sup> もあり、さらに詳細な検討が必要である。Bombesin による胃排出の作用機序は不明であるが、胃排出を著明に促進させた結果は興味深い。

今回の我々の実験において意識下と全身麻酔下で薬物の作用を検討したが、胃排出に関しては薬物の作用の違いが見られなかった。しかし全身麻酔の場合は胃排出が遅延されるので胃排出を促進させる薬物の検討に際しては麻酔下で、胃排出を遅延させる薬物の場合は意識下で顕著な作用が現われる。これは意識下においてバランス良く保たれている胃排出の促進と抑制の関係が麻酔されることによって乱され、意識下で目立った作用を示さない薬物でも麻酔下ではその作用が著明に現われたためだと考えられる。この促進と抑制の関係を自律神経系の面から見ると、一般に副交感神経は胃や小腸の平滑筋を収縮させ、交感神経はそれらの筋を弛緩させると言われており我々の実験においても胃排出との関連性が見られた。この自律神経系の胃排出に対する効果をさらに詳しく検討する目的でそれぞれの遮断薬を同時あるいは単独で投与した。副交感神経遮断薬である atropine の併用によって明らかに carbamylcholine の作用が拮抗され胃排出が遅延されたため、胃排出を促進する因子として副交感神経が関与していると考えられる。また交感神経遮断薬である propranolol ( $\beta$ -遮断薬) や phenoxybenzamine ( $\alpha$ -遮断薬) の併用により isoproterenol の胃排出遅延作用がどのように変化するかを検討した結果、propranolol で遮断され、phenoxybenzamine では影響が見られなかった。これに norepinephrine が胃排出に対して効果を示さない (Table I) という結果を考慮すると胃排出を遅延させる因子として交感神経の  $\beta$ -作用が関与していると考えられる。しかし propranolol の単独投与でも isoproterenol と同様に胃排出が遅延されるという結果も得られたので、一概には  $\beta$ -作用が胃排出を遅延させるとは言い切れない。また phenoxybenzamine

の単独投与ではほとんど影響がなく現在のところ胃排出の遅延に参与しているのが交感神経の $\alpha$ -作用なのか、 $\beta$ -作用なのかは確認できなかった。

経口的に投与してその効果を期待する薬物の胃排出に対する作用 (Table III) に関しては試験食に混合してその作用を検討したが、局所収斂作用や胃酸分泌抑制作用<sup>13)</sup>を有する tannic acid や臨床的に消化性潰瘍時の疼痛に広く使用されている局所麻酔剤である oxethazaine<sup>14)</sup>は明らかに胃排出を遅延させたことから、これらの薬物は胃の運動を抑制していると考えられる。また酸あるいは胃酸中和剤を混合した試験食を投与しても胃排出に対して影響が見られなかったため、食物の液性と胃排出とはほとんど関係がないと思われる。

病態動物における胃排出についてはストレス負荷1時間目では影響が認められなかった。また胃潰瘍時における胃排出に関しては、一般に遅いと言われており<sup>15)</sup>我々の実験でも同様の傾向が認められた。十二指腸潰瘍時における胃排出は促進されると言われている<sup>15b,c)</sup>が我々の実験でもその傾向が見られた。しかし人における病態と胃排出の関係は複雑であり、今後さらに多くの検討を要すると考えられる。

#### 引用文献および注

- 1) J.I. Rotter, *Digest. Dis. Sci.*, **26**, 154 (1981).
- 2) a) M. Kunihara (S. Lee), T. Meshi, *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 916 (1981); b) A.R. Cooke, T.S. Chvasta, N.W. Weisbrodt, *Am. J. Physiol.*, **223**, 934 (1972); c) J. Watanabe, H. Okabe, T. Ichihashi, K. Mizojiri, H. Yamada, R. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2148 (1977).
- 3) a) S.G. Hamilton, H.J. Sheiner, M.F. Quinlan, *Gut*, **17**, 273 (1976); b) J.G. Moore, P.E. Christian, R.E. Coleman, *Digest. Dis. Sci.*, **26**, 16 (1981); c) N.D. Christofides, R.G. Long, M.L. Fitzpatrick, G.P. McGregor, S.R. Bloom, *Gastroenterology*, **80**, 456 (1981).
- 4) D.A. Droppleman, R.L. Gregory, R.S. Alphin, *J. Pharmacol. Methods*, **4**, 227 (1980).
- 5) S. Tani, N. Muto, *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3475 (1982).
- 6) H. Shay, S.A. Komarov, S.S. Fels, D. Meranze, M. Gruenstein, H. Siplet, *Gastroenterology*, **5**, 43 (1945).
- 7) K. Takagi, S. Okabe, *Jan. J. Pharmacol.*, **18**, 9 (1968).
- 8) K. Takagi, S. Okabe, R. Saziki, *Jan. J. Pharmacol.*, **19**, 418 (1969).
- 9) S. Okabe, J.L.A. Roth, C.J. Pfeiffer, *Digest. Dis.*, **16**, 277 (1971).
- 10) C.S. Lieber, L.M. DeCarli, *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**, 474 (1970).
- 11) G. Bertaccini, C. Scarpignato, *Experientia*, **38**, 385 (1982).
- 12) R.R. Dozois, K.A. Kelly, *Am. J. Physiol.*, **221**, 113 (1971); J.N. Hunt, N. Ramsbottom, *Brit. Med. J.*, **4**, 386 (1967).
- 13) 谷 覚, 薬誌, **96**, 648 (1976).
- 14) 原 義雄, 医薬ジャーナル, **14**, 1477 (1978).
- 15) a) J.D. George, *Gut*, **9**, 237 (1968); b) 原沢 茂, 谷 礼夫, 野見山哲, 崎田隆一, 三輪正彦, 鈴木荘太郎, 三輪 剛, 日本内分泌, **68**, 37 (1979); c) 谷口勝俊, 日消誌, **77**, 1871 (1980).