

ラット胃粘膜に対する GABA 誘導体 (Baclofen) の潰瘍惹起作用

原 信行*, 原 洋一*, 夏目 康弘*, 後藤 義明**

住友製薬(株)研究所*

徳島文理大学薬学部薬理学教室**

(1990年7月10日〔特〕)

要約: GABA の脂溶性誘導体である baclofen の潰瘍惹起作用と体温との関係をラットを用いて検討した。ウレタン麻醉下で体温を低下 (28~30°C) させたラットにおいて baclofen は 2, 4 および 8 mg/kg, s.c. 投与により用量依存的な胃潰瘍惹起作用を示した。また高用量の 8 mg/kg, s.c. 投与群では十二指腸においても高率に潰瘍性病変が発生した。しかしながら, 正常体温 (37~38°C) に保ったラットにおいては baclofen は 8 mg/kg, s.c. によっても潰瘍惹起作用を示さなかった。一方, baclofen 8 mg/kg, s.c. と同等の酸分泌刺激効果を有する histamine 30 mg/kg, s.c. は低体温ラットにおいても正常体温ラットにおいても同程度に胃潰瘍を発生させ, 体温との関係は認められなかった。以上の結果は, GABA 誘導体がラットの消化管に潰瘍を惹起させ, しかも, その作用が体温調節機構と密接に関連することを示しており, 水浸拘束や寒冷暴露といった体温低下処置による実験潰瘍の成因を研究する上で重要な手掛かりを与えるものと考えられる。

緒 言

中枢神経系がストレス潰瘍の成因に重要な役割を果たしていることは良く知られており^{1,2)}, ある種のニューロペプチドや生体アミンが中枢機構に作用して胃酸分泌や胃潰瘍の発生に影響を与えることが報告されている^{3~6)}。著者らはこれまでに GABA の agonist である baclofen が, ラット^{7~9)}や犬¹⁰⁾において中枢性に胃酸分泌を刺激することや GABA 様薬物がラットの実験的ストレス潰瘍形成を増悪させ, 逆に GABA 拮抗薬が抑制することなどを見出し¹¹⁾, ストレス潰瘍の成因に GABA が関与する可能性を報告してきた。しかしながら, GABA あるいは GABA agonist の実験動物への投与が, それ自身で消化管に潰瘍性病変を引き起こすという GABA と潰瘍発生との直接的関連を示す報告はない。

一方, 最近著者らは baclofen の麻醉ラットにおける胃酸分泌刺激作用が, 動物の体温低下により著しく増強される現象であることを見出した¹²⁾。このことは多くの実験的ストレス潰瘍が, 水浸拘束や寒冷暴露といった体温低下を伴う処置により発生することと考え合わせると, GABA 機構が体温調節機構に大きな意味を持ち, 潰瘍発生に寄与している可能性が推定された。

そこで本研究は, 潰瘍発生に対する GABA 機構の関与を調べる目的で, GABA agonist, baclofen の投与が, ラットの胃・十二指腸粘膜に潰瘍性病変を引き起こすか否かを体温との関係を考慮して検討した。

実 験 材 料

1. 実験動物

実験には Sprague-Dawley 系雄性ラット (日本 SLC, 体重 200~250 g) を水は自由に摂取させ 24 時間絶食して用いた。

2. 使用薬物

実験には以下の薬物を用いた。baclofen (住友製薬研究所にて合成), histamine dihydrochloride, atropine sulfate (以上, ナカライテスク)。薬物はすべて生理食塩水に用時溶解して用いた。

実 験 方 法

体温と潰瘍発生との関係を調べるのに, 無麻醉では動物の体温を正確にコントロールすることが難しいため, 実験は全てウレタン麻醉ラットを用いて行った。

1. 潰瘍実験

ラットをウレタン (1.2 g/kg, i.p.) にて麻醉し, 気管カニューレを装着後, 温度可変式ホットプレート上に背位に固定した。動物の体温は前記のホットプレートにより調節し, 深部体温をサーミスター温度計 (日本光電 MGA-III) にてモニターした。体温が正常体温群で 37

* ㊞554 大阪市此花区春日出中3-1-98

** ㊞770 徳島市山城町180

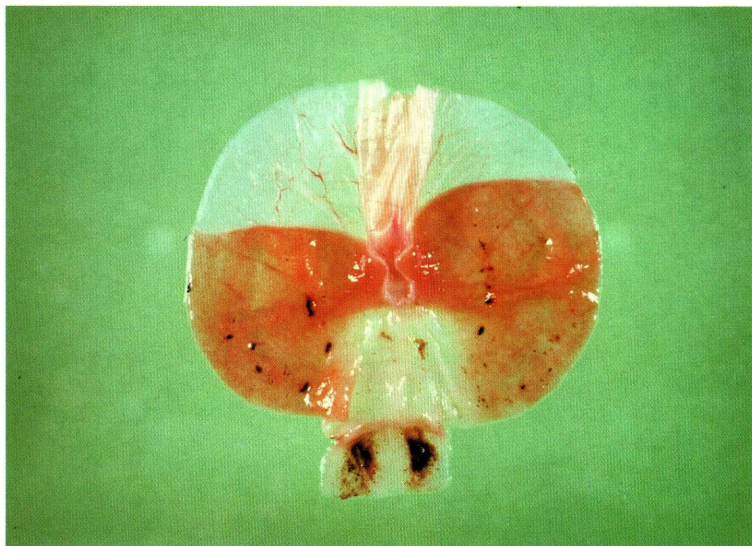


Fig. 1 Gross appearance of gastro-duodenal mucosal lesions induced by baclofen. Baclofen at the dose of 8 mg/kg was subcutaneously given to the urethane (1.2 g/kg) anesthetized hypothermic (28~30°C) rat. The rat was sacrificed and the gastro-duodenal mucosa was evaluated 7 hr after baclofen administration.

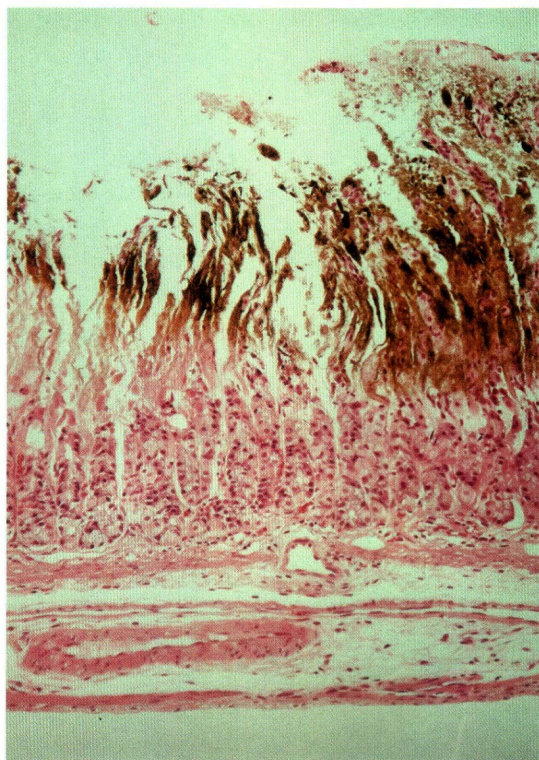


Fig. 2 Histological appearance of baclofen-induced gastric lesion in the urethane anesthetized hypothermic rat (Haematoxylin-Eosin staining).

～38°C, 低体温群で 28～30°C の範囲で安定したことを確認した後, baclofen および histamine を背部皮下に 2 ml/kg の割合で投与した。動物は 7 時間後にエーテル深麻酔にて致死せしめ, 胃を摘出し腺胃部に発生した潰瘍の長さ (mm) を測定し一匹あたりの総和を潰瘍係数とした。atropine は baclofen 投与の約 30 分前に 2 ml/kg の割合で皮下投与し, 迷走神経切断は baclofen 投与の約 1 時間前に頸部で行った。

2. 胃酸分泌実験

ウレタン (1.2 g/kg, i.p.) にて麻酔したラットの頸部に気管カニューレを装着し頸部食道と幽門を結紮後, 前胃に小切開術を施し, 胃内灌流用のカニューレを挿入固定した。胃内を十分に洗浄した後, 定速ポンプ (アドバンテック東洋 TPM-15E) を用い生理食塩水 (25±2°C) を 5 ml/min の流速にて灌流した。胃酸分泌量は灌流液を自動滴定装置 (東亜電波 HSM-10A) を用い中和滴定することにより測定し, $\mu\text{Eq} \cdot \text{HCl/hr}$ で表示した。baclofen および histamine は各々 2 ml/kg の割合で背部皮下に投与した。

3. 統計処理

実験結果の統計学的処理は Student の *t*-検定を用いて行い危険率 5% 以下を有意とした。

実験結果

ウレタン麻酔下ではラットの体温は 28～30°C であり, この低体温群に baclofen 8 mg/kg を皮下投与すると, 7 時間後には図 1 に示す様に腺胃部に点状あるいは線状の壊死性病変が発生した。また十二指腸にも約 80% の動物に病変の発生が認められた。図 2 に胃病変の組織学的観察写真を示す。病変は粘膜筋板に達することなく, 粘膜層に限局したものであった。低体温ラットにおける baclofen の投与量と胃潰瘍形成との関係を図 3 に示した。baclofen を投与せず, 低体温状態で 7 時間放置した群においては, 潰瘍性病変の発生は殆ど認められなかった (潰瘍係数 0.4 ± 0.4 mm)。一方, baclofen の 2, 4 および 8 mg/kg を s.c. 投与した群では腺胃部粘膜において用量に依存した潰瘍性病変の発生が認められた。各用量での潰瘍係数は 3.5 ± 1.1 , 4.8 ± 1.6 および 12.3 ± 2.4 (mm) であった。baclofen 8 mg/kg の投与による胃潰瘍の発生は, atropine 0.1 mg/kg, s.c. の前処置および迷走神経切断によって, ほぼ完全に抑制された。それぞれの処置群における潰瘍係数は 0.3 ± 0.2 および 0.4 ± 0.2 (mm) であった (図 3)。

baclofen による胃潰瘍の発生と体温との関係を調べ

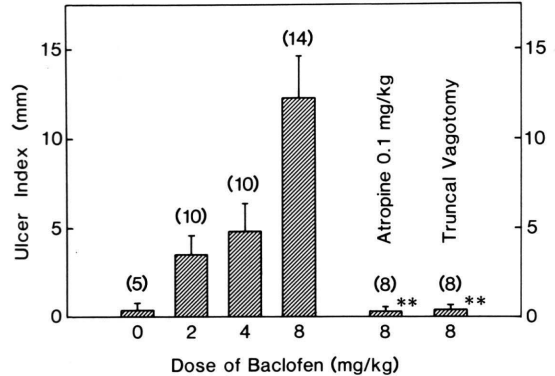


Fig. 3 Ulcerogenic effect of baclofen in the hypothermic rat and its inhibition by the pretreatment with atropine and vagotomy. Subcutaneous administration of baclofen at the doses of 2, 4 and 8 mg/kg dose-dependently induced gastric ulcers in the urethane (1.2 g/kg, i.p.) anesthetized rat (body temperature ranging 28～30°C). Atropine (0.1 mg/kg, s.c.) and truncal vagotomy completely suppressed the development of gastric ulcers induced by baclofen at the highest dose. Numbers in the parentheses indicate numbers of animals in each group. ***P* < 0.01, compared with the group given 8 mg/kg of baclofen alone.

るため, 麻酔ラットを保温し, 正常体温 (37～38°C) に維持した群に baclofen 8 mg/kg を s.c. 投与し, 7 時間後に胃粘膜を観察したが, 低体温群とは異なり, 正常体温群のラットにおいては胃潰瘍の発生は殆ど認められなかった (潰瘍係数 0.2 ± 0.1 mm, 図 4)。そこで比較のため, 胃酸分泌刺激物質 histamine による胃潰瘍発生と体温との関係を検討した。潰瘍実験に先立ち, baclofen 8 mg/kg, s.c. と同等の胃酸分泌反応を引き起こす histamine の用量を検討した結果, 30 mg/kg, s.c. が対応する量であることを確認し得たので, この用量を潰瘍実験に用いた (表 1)。histamine の投与は, 図 4 に示した様に baclofen に比べると軽度ではあるが, 低体温ラットの腺胃部粘膜に明らかな潰瘍性病変を引き起こした (潰瘍係数 5.6 ± 0.9 mm)。ところが histamine による胃潰瘍は正常体温に保温維持したラットにおいても同様に発生し (潰瘍係数 5.9 ± 1.4 mm), 低体温時にもみ特異的に潰瘍を発生させる baclofen の作用態度とは明らかに異なっていた (図 4)。

考 察

近年ニューロペプチドを中心とする数多くの生体内物

Table 1 Gastric secretagogue actions of baclofen and histamine in urethane anesthetized rats.

Drugs	Dose (mg/kg)	Route	No. of rats	Acid output ($\mu\text{Eq} \cdot \text{HCl}/60 \text{ min}$)			
				Base	0~60 min	60~120 min	120~180 min
Baclofen	8	s.c.	6	12.0 \pm 1.6	120.0 \pm 16.0	216.6 \pm 25.4	145.0 \pm 30.2
Histamine	30	s.c.	6	11.6 \pm 1.2	108.8 \pm 8.2	221.6 \pm 9.8	158.4 \pm 9.6

The stomach was continuously perfused with saline solution through a gastric cannula. Acid output was determined by titrating the perfusate with 0.01 M NaOH to pH 5.5. Baclofen (8 mg/kg, s.c.) and histamine (30 mg/kg, s.c.) showed almost the same secretagogue potencies in the urethane anesthetized hypothermic (28~30°C) rat. Each value represents the mean \pm S.E.M.

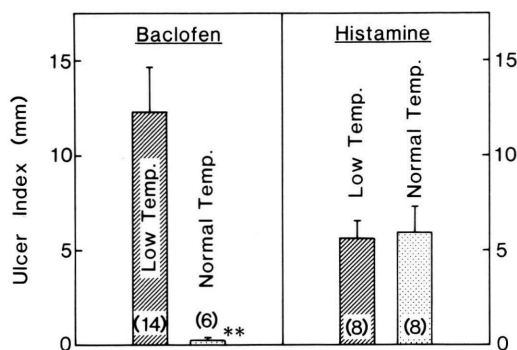


Fig. 4 Comparison of the ulcerogenic actions of baclofen and histamine in hypothermic and normothermic rats. Baclofen (8 mg/kg, s.c.) induced gastric ulcers in the hypothermic rat but not in the normothermic rat, whereas the ulcerogenic action of histamine (30 mg/kg, s.c.) was observed in both groups. The body temperature in urethane-anesthetized hypothermic animals ranged between 28~30°C (low temp.) and the normothermic rat had body temperatures of 37~38°C (normal temp.). Numbers in the parentheses indicate numbers of animals in each group. ** $P < 0.01$, compared with the baclofen-treated low temperature group.

質が中枢性に作用し、胃酸分泌に影響を与えることが報告されている^{3~6)}。これらのうち多くは胃酸分泌を抑制するのに対し、TRH、ガストリン、GABAは胃酸分泌を刺激する⁴⁾ことから、中枢における胃酸分泌機構を解明する手掛かりとしても、またストレス性の消化管傷害の成因としても興味を持たれる。特にGABAのagonistは、ラット^{7~9)}だけでなく、犬¹⁰⁾およびヒト¹³⁾など各種の動物で酸分泌刺激作用が証明されていることから、著者らはGABAに着目し、これまでGABA機構による酸分泌調節について種々の検討を行ってきた。それによれば、GABAの脂溶性agonistであるbaclofenは、麻酔ラットにおいては低体温時に特異的に

胃酸分泌刺激作用を示し¹²⁾、しかもその反応は迷走神経切断やatropine前処置で抑制された⁷⁾。またbaclofenの胃酸分泌刺激作用は迷走神経の遠心性発射の増大を伴うこと⁸⁾、および脳内投与されたbaclofenは末梢投与に比べ約1/250の用量で酸分泌刺激反応を引き起こすこと⁹⁾から、中枢性の作用であることもすでに明らかにされている。加えて、我々はGABA様薬物やGABA拮抗薬の前処置が、ラットのストレス潰瘍の発生を増悪させたり軽減させたりすること¹¹⁾から、GABAが実験的胃潰瘍の成因として重要な役割を果たしている可能性を推定している。

そこで本研究では、潰瘍発生とGABAとの因果関係を明らかにすると同時に、酸分泌反応と同様に潰瘍発生も低体温と相関するか否かを調べる目的で、GABA agonistであるbaclofenの潰瘍惹起作用の検討を行った。その結果、低体温条件下ではbaclofenにより用量依存的かつ著明な潰瘍性病変の発生が認められた。このbaclofenによる胃潰瘍は、潰瘍の形態からも組織学的所見からも水浸拘束ストレス潰瘍や寒冷ストレス潰瘍に類似しており、また実験的ストレス潰瘍に著効を示すatropine 0.1 mg/kg, s.c. 処置や迷走神経切断により、ほぼ完全に抑制されたことから、その成因に迷走神経性の胃酸分泌亢進が関与すると考えられ、成因面からもストレス潰瘍との共通性が示唆された。

一方、正常体温ラットにおいてはbaclofenは最高用量の8 mg/kgの投与によっても殆ど胃病変を引き起こさず、baclofenによる潰瘍惹起作用は胃酸分泌刺激作用と同様に¹²⁾、体温が低下している動物においてのみ認められることが明らかとなった。これに対しhistamineによる潰瘍発生は低体温時にも正常体温時にも同程度認められたが、これは以前に報告した様に、histamineの胃酸分泌刺激作用がbaclofenとは異なり体温に影響されないこと¹²⁾によるものであろう。一般に生体の反応は、循環、呼吸、内外分泌など何れをとっても低体温時

には抑制されるのが通常であることから, baclofen による胃酸分泌, 潰瘍惹起作用は低体温時に亢進する点で特異な反応と言えるが, これを潰瘍の成因面から見ると非常に興味深い。

すなわち, ラットにストレス潰瘍を発生させるのは, 水浸^{14,15)}や寒冷暴露^{16,17)}などいずれも動物の体温を低下させる処置であることや, ごく軽度の潰瘍しか惹起しない低用量の消炎剤と寒冷処置とを組み合わせると, 著明な潰瘍発生が認められること^{18,19)}など, 潰瘍の発生と体温の低下との間には密接な関連が示唆されている。しかしながら, これまで体温低下がどのような機序で潰瘍を発生させるのかについては殆ど研究されていない。今回の実験結果は, 低体温が GABA agonist による胃酸分泌刺激機構を活性化し, 潰瘍を引き起こすことを示したものであり, 水浸拘束ストレスや寒冷ストレス等の低体温による実験的ストレス潰瘍の発生に一部, 低体温条件下で活性化される GABA 機構による胃酸分泌亢進が関与している可能性を示唆するものと考えられる。

さらに, baclofen によって引き起こされるこの潰瘍は, 攻撃因子優位の潰瘍モデルとして有用な薬効評価系となり得る可能性も考えられる。

文 献

- 1) Brooks, F.: Handbook of Physiology, Alimentary Canal II, p. 805~826, Grune & Stratton, New York (1967)
- 2) Grijalva, C.V., Lindholm, E. and Novin, D.: Physiological and morphological changes in the gastrointestinal tract induced by hypothalamic intervention: an overview. *Brain Res. Bull.* **5**, Supp. 1, 19~31 (1980)
- 3) Tache, Y., Vale, W., Rivier, J. and Brown, M.: Brain regulation of gastric acid secretion in rats by neurogastrointestinal peptides. *Peptides* **2**, Supp. 2, 51~55 (1981)
- 4) Morley, J.E., Levine, A.S. and Silvis, S.E.: Central regulation of gastric acid secretion: The role of neuropeptides. *Life Sci.* **31**, 399~410 (1982)
- 5) Tache, Y., Goto, Y., Gunion, M., Vale, W., Rivier, J. and Brown, M.: Inhibition of gastric acid secretion in rats by intracerebral injection of corticotropin-releasing factor. *Science* **222**, 935~937 (1983)
- 6) Tache, Y., Goto, Y., Hamel, D., Pekary, A. and Novin, D.: Mechanisms underlying intracisternal TRH-induced stimulation of gastric acid secretion in rats. *Regul. Peptides* **13**, 21~30 (1985)
- 7) Goto, Y. and Debas, H.T.: GABA-mimetic effect on gastric acid secretion: Possible significance in central mechanisms. *Dig. Dis. Sci.* **28**, 56~60 (1983)
- 8) Goto, Y., Tache, Y., Debas, H.T. and Novin, D.: Gastric acid and vagus nerve response to GABA agonist baclofen. *Life Sci.* **36**, 2471~2475 (1985)
- 9) Hara, N., Hara, Y., Natsume, Y. and Goto, Y.: Direct evidence indicating that a GABA-mimetic stimulates acid secretion through central mechanisms. *Japan. J. Pharmacol.* **53**, 271~274 (1990)
- 10) Goto, Y., Hollinshead, J.W. and Debas, H.T.: A new intraoperative test for completeness of vagotomy; the PCPGABA (beta-parachlorophenyl-gamma-aminobutyric acid) test. *Am. J. Surg.* **147**, 159~163 (1984)
- 11) Goto, Y. and Watanabe, K.: Possible involvement of brain GABA metabolism in the pathogenesis of experimental ulcers in the rat. In *Drugs and Peptic Ulcer*, Edited by Pfeiffer, C.J., p. 203~213, CRC Press, New York (1982)
- 12) Hara, N., Hara, Y. and Goto, Y.: Acid secretagogue mechanisms of a GABA-mimetic (PCPGABA) in the anesthetized rat: Effect of hypothermia. *Life Sci.* **46**, 1793~1799 (1990)
- 13) Pugh, S., Lewin, M.R., Williams, S., Barton, T.P. and Clark, C.G.: Baclofen (PCP-GABA) as a stimulant of gastric acid secretion in man. *IRCS Med. Sci.* **13**, 1082~1083 (1985)
- 14) Takagi, K., Kasuya, Y. and Watanabe, K.: Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **12**, 465~472 (1964)
- 15) Takagi, K. and Okabe, S.: The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. *Japan. J. Pharmacol.* **18**, 9~18 (1968)
- 16) Beattie, D.: Effect of drugs on rats exposed to cold-restraint stress. *J. Pharm. Pharmacol.* **29**, 748~751 (1977)
- 17) Senay, E.C. and Levine, R.J.: Synergism between cold and restraint for rapid production of stress ulcer in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **124**, 1221~1223 (1967)
- 18) Rainsford, K.D.: A synergistic interaction between aspirin, or other non-steroidal anti-inflammatory drugs, and stress which produces severe gastric mucosal damage in rats and pigs. *Agents Actions* **5**, 553~558 (1975)
- 19) Robert, A., Leung, F.W., Kaiser, D.G. and Guth, P.H.: Potentiation of aspirin-induced gastric lesions by exposure to cold in rats:

Role of acid secretion, mucosal blood flow, and gastric mucosal prostanoic content. Gastroenterology 97, 1147~1158 (1989)

Abstract—Ulcerogenic effect of a GABA derivative, baclofen, in the rat : Effect of hypothermia. Nobuyuki HARA, Youichi HARA, Yasuhiro NATSUME and Yoshiaki GOTO* (Research Laboratories, Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd., Konohana-ku, Osaka 554, Japan and *Department of Pharmacology, Tokushima Bunri University, Yamashiro-cho, Tokushima 770, Japan). *Folia pharmacol. japon.* 96, 163~168 (1990)

The ulcerogenic action of baclofen, a lipophilic derivative of GABA, was studied in the urethane anesthetized rat in relation to body temperature. Baclofen at the doses of 2, 4 and 8 mg/kg, s.c. induced gastric ulceration in a dose-dependent manner in the hypothermic (body temperature: 28~30°C) rat. Duodenal ulcers were also observed in about 80% of the hypothermic animals treated with the highest dose of baclofen. Baclofen, even at 8 mg/kg, s.c., however, failed to induce gastric ulceration in the normothermic (body temperature: 37~38°C) rat. Histamine, at the secretagogue dose causing acid secretion as potently as 8 mg/kg of baclofen, induced gastric ulcers in both the hypothermic and the normothermic rats. These results indicate that the ulcerogenic effect of baclofen is closely related to the thermoregulation mechanism and may provide important clues for clarifying the pathophysiology of gastroduodenal ulcers induced by hypothermic treatments such as water-immersion stress ulcers or cold exposure ulcers.