cinchophenによるペプシン分泌に関する 犬の胃腺主細胞の電子顕微鏡的研究

牛 尾 彰

群馬大学医学部第一外科学教室 (主任 石原恵三教授)

cinchophen は古くから抗リウマチ薬として使用されているが、1931年にChurchill and Van Wagonerが犬において胃潰瘍の発生を報告してから、比類まれなる実験的慢性潰瘍をつくる有力な手段として広く知られている。しかし、その成因についてはいまだ十分に解明されていない。cinchophen による胃液分泌作用はさほど強いものでなく、粘液とくにノアル酸の分泌が有意な減少を示し⁶⁾、胃粘膜に対しては酸ペプシンの侵蝕作用よりもむしろ粘液による防禦作用の減退が注目される。教室の研究によると、cinchophenによる胃液分泌では酸度の上昇は軽度であるが、ペプシンの分泌が著明で、6時間を頂点とする遅発の上昇が特徴的である。その分泌曲線はインシュリンと異なってACTHのそれと一致する。そして cinchophen による胃液分泌が下垂体茎分断または副腎切除により抑制され、迷走神経切断によつては阻止されないことから、下垂体副腎皮質系を介する液性機序の存在が窺われる¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。これらの論拠をなす教室の実験データは、胃液の生化学的研究と胃腺の光学顕微鏡的研究によつてえられたものであるが、私は電子顕微鏡を用いて胃腺主細胞の超微構造の変化を追及し、作用機序について二三の知見を得たのでその結果を報告する。

I 実験材料と方法

実験動物には体重およそ8kgの雄性雑種成犬を使用し、食餌として dog food を1日1回与えた。実験は正席犬のほかに下垂体茎分断大及び迷走神経切断大を用いて24時間絶食後に cinchophen の0.15g/kgを経口投与し、4時間後に胃腺主細胞の変化を観察した。またインシュリン2IU/kgの静脈内注射後1時間の胃腺主細胞の変化を調べてこれとも比較検討した。各実験例は2匹を1群とし、各々の所見が相違する場合にはさらに追加して調べた。動物をラボナールで麻酔した後、開腹して胃体部大弯側の一定部位から約5mmcuの組織片を採取し、直ちに cacodylate buffer によりPH7.4 に調整した5% Glutaraldehyde 溶液を盛った

時計皿中で細切し約1mm³の大きさとなし、さらにこれを同じ固定液を入れた瓶中で0°C約2時間半固定した。固定後組織片は cacodylate buffer で約1時間洗滌した後、caulfield氏1%OsO₄溶液を入れた瓶中で0°C約1時間半後固定した。次いで漸強エタノール系列にて型の如く脱水後Eponに包埋し、LEITZ社製超ミクロトームで薄切し、醋酸ウラニウム、水酸化鉛で2重染色し、JEM-5型またはJEM-7型電子顕微鏡で観察した。両側迷走神経の切断は横隔膜下にて行い、術後2週間て実験を行った。下垂体茎分断は口蓋経由で行い、術後2週間て実験を行った。

II 実験成績

A 正常犬(無処置犬)における実験

1 飢餓時の胃腺主細胞所見

細胞はやや広い基底部をもつ円錐形で、飢餓状態では多量の分泌顆粒をもち、ほぼ円形乃至楕円形の核が基底側に偏在し、通称1~2個の大きい核小体がある。図1の示すように、核側部から腺腔面に至る細胞質の大部分は分泌顆粒によつて充たされる。分泌顆粒(チモケノ顆粒)は一般に電子密度が低く、限界膜でつつまれ、内部に中等度乃至低電子密度の均質性内容を入れる。分泌顆粒の融合も屢々見出される。腺腔面に於ける分泌顆粒の排出像は少い。Golgi装置は核上部にあるが、分泌顆粒の間の狭い部分に分散して見える。Golgi 層板の拡大および分泌顆粒形成像は著明でない。粗面小胞体は層板状に配列している。糸粒体は細胞側壁および核側部から核下部に見られ、限界膜および糸粒体核はかなり多く、横に密に配列する。lysosomeは大小球形高電子密度の小体でその数は少い。腺腔面には少数の短いmicrovilli がある。隣接細胞と接する細胞側面の腺腔端にはjunctional complex (閉鎖堤) かみられ、深部には細胞間嵌合がある。基底面の形質膜に沿つて基底膜がある。

2 インシュリン投与後の所見

核上部から細胞先端部にみられる分泌顆粒は非常に

減少し、腺腔面に於ける分必顆粒の排出像は多く、分必物の排出の増加が明かである。Golgi 装置は核上部にまとまってよく発達し、Golgi 層板の拡大ならびに分必顆粒形成像が著明である。粗面小胞体は扁平囊の内腔の拡大により多数の不規則形囊が現われ、やや密度の高い内容を入れ、層板構造が殆んど消失している。この変化はおそらく粗面小胞体が旺盛な分必顆粒形成に関与するためであろう。細胞間嵌合糸粒体には特記すべき所見はない。lysosomeは明らかに増加し、Golgi 装置の周囲或は内部に多い、以上の所見より胃腺主細胞はインシュリン投与により強く分必を刺激されることか観察された。

3 cinchophen 投与後の所見

核上部から細胞先端部の分必顆粒は減少し、腺腔面に於ける分必顆粒の排出像が多い。しかしインシュリン投与例に比べ分必顆粒の減少の程度は弱い。図2の示すように、Golgi 装置は核上部にまとまって見出され、分必顆粒の形成は旺盛である。すなわち、Golgi層板の拡大が著明で多数のGolgi空胞が現われ、Golgi野の内部或は周囲には小さく不規則形の若い分必顆粒が多く見られる。粗面小胞体は細胞基底部と核側部に層板状に配列し、扁平囊か空胞状に拡大した部分も見られる。これは時にGolgi装置の近くに見えることかあるか、あまり著明ではない、しかしインシュリン投与例では扁平囊か不規則に拡大し、層板状配列が乱れているので所見の差かみとめられる。糸粒体はGolgi野の周囲、細胞基底部、細胞側壁に主としてみとめられる。lysosomeは少いかGolgi野周辺にみられる。細胞側面形質膜に見られる可なり複雑な細胞間嵌合には変化なく、又腺腔面のmicrovilliは短かく少い。以上の所見より胃腺主細胞はcinchophen投与により強く分必を刺激されることか観察された。

B 下垂体茎分断犬における実験

1 飢餓時の所見

正席犬に比へて細胞の大きさか明らかに小さくなっている。核および核小体には特に変化はみとめられない。図3の示すように、分必顆粒は核上部から細胞先端部まで充満してみられるが、排出像は殆んど見られない。Golgi装置は核上部で分必顆粒の間に見られるが、Golgi層板或はGolgi空胞の拡大は著明でなく、分必顆粒形成像も著明ではない。Golgi小胞はあまり減少していない。粗面小胞体は著明に減少し層板状配列は疎となり扁平囊の間隔が広がっている。糸粒体は

細胞側壁および核側部から核下部にみとめられる。大きさ、数及び糸粒体稜の変化は明らかでない。以上の所見から、胃腺主細胞は茎分断により細胞の萎縮、とくに粗面小胞体の減少することか認められた。

2 インシュリン投与後の所見

図4の示すように、核上部から細胞先端部には分必顆粒かかなり多い。腺腔面には分必顆粒排出像が見られる。核上部で分必顆粒の間にGolgi装置が見られ、Golgi層板の拡大ならびに、分必顆粒の形成像が著明である。粗面小胞体は、茎分断大の飢餓分必像に比へてやや増加するか、扁平囊に拡大部かあらわれ不規則囊状のものか多く、層板状の配列は乱れている。図4に見られる分必顆粒間の小空胞は限界膜にribosomeが附着しており拡大した粗面小胞体囊である。糸粒体、microvilli、細胞間嵌合には著変はない。lysosomeは主にGolgi野周囲にみとめられるかそれ程増加していない。以上の所見から胃腺主細胞は細胞の萎縮、とくに粗面小胞体の減少かあるにもかかわらず、強く分必を刺激され、とくに粗面小胞体が著明に刺激されることか認められた。

3 cinchophen投与後の所見

図5の示すように、分必顆粒は核上部から細胞先端部を充たし、減少もなく、又排出像も殆んどない。Golgi装置の層板の拡大は殆んどみられず、分必顆粒形成像も飢餓の場合と同様極めて弱い、ただ細胞先端部の分必顆粒間にはかなり多くの小空胞か認められる。粗面小胞体の減少は下垂体茎分断大の飢餓分必像と同様で、扁平囊の拡大は見られない(図5)。糸粒体microvilli等の所見も同様である。このように茎分断犬の飢餓分必像に比へ、細胞先端部の小空胞に多少の変化かみとめられるか、その他の所見については変化はみとめられない。インシュリン投与例とのちかいは、Golgi層板の拡大および分必顆粒の形成像かほとんどみられないことと、粗面小胞体の変化かみられないことである。以上の所見から下垂体茎分断を行うと胃腺主細胞はcinchophenを投与しても分必を殆んど刺激されないことか認められた。

C 迷走神経切断犬における実験

1 飢餓時の所見

正席犬に比へて核および核小体には特に変化はみとめられない。図6の示すように、核上部から細胞先端部に分必顆粒か充満し、核側部から基底部にまて、およびものかある。分必顆粒の排出像は殆んどない。

Colg₁層板およびGolgi空胞の拡大は殆んどみられず、しかもGolgi小胞は少なく、Golgi野に於ける分泌顆粒の形成像も少い。粗面小胞体は比較的少く層板状に配列している。糸粒体は細胞側壁および核側部から核下部にみとめられる。lysosomeはみとめられるか非席に少い。腺腔面のmicrovilliは短くて少く、細胞間嵌合には変化はない。以上の所見から、Golgi小胞の減少粗面小胞体の軽度減少がみとめられる以外には、正常犬飢餓分泌像とほとんど差がない。このことから胃腺主細胞は迷走神経を切断しても下垂体茎分断のように強い変化をおこさないことか認められた。

2 インシュリン投与後の所見

核上部から細胞先端部には分泌顆粒が充満し、分泌顆粒排出像は少い。Golgi装置は分泌顆粒間にあり、Golgi層板の拡大は著明でなく、分泌顆粒の形成像も多くはない。細胞基底部から核側部にかけて粗面小胞体は平行して密に並ぶ扁平囊が層板状に配列し、扁平囊の拡大は認められない。糸粒体腺腔面のmicrovilli、細胞間嵌合等の所見は迷走神経切断犬の飢餓分泌像と同様である。以上の所見から、迷走神経を切断した犬の胃腺主細胞はインシュリンを投与しても分泌を殆んど刺激されないことか認められた。

3 cinchophen投与後の所見

図7の示すように、分泌顆粒は核上部から細胞先端部にかかなり多いが、図8の示すように、分泌顆粒の排出像もかなり認められる。Golgi装置は核上部で分泌顆粒間にあり、Golgi層板の拡大は著明ではないが、分泌顆粒の形成像が認められる(図7)。粗面小胞体糸粒体、腺腔面のmicrovilli、細胞間嵌合等については迷走神経切断犬の飢餓分泌像と同様である。インシュリン投与例とのちかいは、分泌顆粒の排出像がかかなりみとめられることである。以上の所見から迷走神経切断犬の胃腺主細胞はcinchophenを投与するとなお分泌像がみられ、インシュリンのように強い抑制をうけないことか認められた。

Ⅲ 考 按

胃腺の超微構造については1951年DALTON(7)が発表して以来数々の報告があるが、胃腺主細胞について最近、柴崎等(8)が冬眠キクカンラコウモリを使って詳しく報告している。胃腺主細胞などの蛋白分泌腺においては、分泌物の合成は粗面小胞体で行われ、分泌物の濃縮による分泌顆粒の形成はGolgi装置で行われ

ることか分っている(5)。糸粒体は酸化酵素系を含みこれによってエネルギーの供給者の役割を果し、lysosomeは酸性フォスファターゼその他の水解酵素を含み細胞内で蛋白合成が行われている時に有効に働くものと考えられる。このようにGolgi装置その他の細胞内小器官は分泌過程でそれぞれの役割を果しているのて、その働き具合に応じた形態的变化を示すことか考えられる。柴崎(9)はラットで、HELANDER(10)がマウスで給食後の変化を観察している。これらによると飢餓時にはGolgi層板の拡大はみられず、分泌顆粒の形成像も多くはない。粗面小胞体は層板状に配列している。糸粒体は細胞側壁および核側部から核下部にみとめられる。給食後ではGolgi層板の拡大が著明であり、Golgi小胞も増加し、分泌顆粒の形成像が著明である。粗面小胞体は内腔が拡大し不規則囊状のものか多く層板構造を呈するものはみられない。糸粒体は主にGolgi野に接してみとめられる。

本実験では、犬にcinchophenを投与し、またインシュリンを投与して比較観察した。分泌顆粒の減少、著明な分泌顆粒排出像、Golgi層板の拡大、Golgi小胞の増加、著明な分泌顆粒形成像、粗面小胞体の扁平囊の不規則な拡大による層板状配列の乱れ等の形態学的に分泌を刺激された所見は両者でみとめられた(図2)。しかしcinchophen投与例ではインシュリン投与例と違って、分泌顆粒の減少の程度が弱く、粗面小胞体の層板状構造の乱れはなく、lysosomeはより少い。これらの点から、cinchophenはインシュリンに比へて代謝亢進度のいっそう弱いことか推測される。

長沢(4)は光学顕微鏡的に下垂体茎分断犬の胃腺主細胞で分泌空胞が胞体に充満していて、インシュリン投与後には正常犬と同様の分泌周期をみたか、cinchophen投与後には分泌像になんらの動きもみられないと報告している。本研究の電子顕微鏡像でも下垂体茎分断犬の飢餓時には分泌顆粒が核上部から細胞先端部まで充満しているのかみられた。Golgi層板の拡大および分泌顆粒の形成像は著明でない。とくに本研究でえられた特長的な所見は正常犬に比へ粗面小胞体が著明に減少し、層板状配列は疎となり、扁平囊の間隔が広がっていることである(図3)。インシュリン投与後には、Golgi層板の拡大および分泌顆粒の形成像が著明で、粗面小胞体はやや増加し、不規則囊状のものか多く、層板状配列は乱れている(図4)。cinchophen投与後では、細胞先端部の分泌顆粒間の小空胞に多少

の変化がみとめられるが、その他の所見については変化がみとめられない(図5)。以上のことから、インシュリンは茎分断犬においても著明な分泌機能亢進像をあらわすが、cinchophen のペプシン分泌効果は下垂体茎分断によって阻止されることが認められた。

長沢(4)は迷切後の飢餓分泌像ではRNAに乏しく空胞が多く、インシュリン投与後にも空胞がいつまでも胞体内にたまって排泄されないが、cinchophen 投与後には正常犬でみられたと同様の分泌循環像が出ると報告している。本研究の電子顕微鏡像でも迷走神経切断犬の飢餓時では、分泌顆粒は胞体内に充満していて、分泌顆粒排出像は殆んどみられない(図6)。Golgi 層板の拡大および分泌顆粒の形成像は少い。また粗面小胞体がやや減少していることは、長沢の記載しているRNAの減少と一致する。迷切犬のインシュリン投与後では飢餓時に比べてほとんど変化がみとめられない。cinchophen 投与では分泌顆粒の排出像がかなりみとめられるが、Golgi 層板の拡大および分泌顆粒の形成像は著明でない(図7, 8)。この所見は長沢の正席犬でみられたと同様の分泌循環像があるという記載とはやや異なり、分泌がかなり抑制されていることをあらわしている。これにより、迷走神経切断によりインシュリンのペプシン分泌効果はほとんど完全に抑制されるが、[cinchophen のペプシン分泌効果もかなり抑制されることがみとめられた。上記の諸所見から cinchophen は胃腺主細胞の分泌を亢進させ、この効果は下垂体茎分断により強く阻止され、迷走神経切断によっても正常犬に比べてかなり抑制されることが知られた。

Ⅳ 総 括

cinchophen による犬の胃腺主細胞の電子顕微鏡的变化をインシュリンのそれと比較検討した。

正常犬に cinchophen を投与すると、分泌顆粒が減少し、腺腔面における分泌顆粒の排出像が増加し、Golgi層板の拡大および分泌顆粒形成像が著明となる。粗面小胞体は、インシュリンでは層板状配列を乱して

いるが、cinchophen ではこれと違って層板状に配列している。

あらかじめ下垂体茎を分断した犬に cinchophen を投与すると、分泌顆粒が多くみられ、腺腔面における分泌顆粒の排出像が殆んどなく、Golgi 層板の拡大も殆んどなく、分泌顆粒形成像が極めて弱く、粗面小胞体が層板状に疎に配列していて、インシュリンで見るとような分泌亢進像が見られない。

あらかじめ両側迷走神経を切断した犬にcinchophen を投与すると、分泌顆粒が多くみられ、分泌顆粒の排出像もインシュリンと異なっておりかなり見出され、Golgi 層板の拡大および分泌顆粒形成像が著明ではないがみられ、粗面小胞体が層板状に配列している。

以上の所見より cinchophen は胃腺主細胞の分泌を亢進させ、この効果は下垂体茎分断により強く阻止され、迷走神経切断によってもかなり抑制されることが知られた。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導御校閲をいただいた石原教授に衷心より感謝の意を表すると共に、形態学的所見および検鏡資料作製に関して御教示御協力をいただいた解剖学伊東教授ならびに柴崎助教授に深謝し、本研究に御協力下さった本教室ならびに解剖学教室員各位に感謝致します。

文 献

- 1) Ishihara, K. & I. Ishizaka : Gunma J. Med. Sci., 7 : 59, 1958.
- 2) 石坂一郎 : 北関東医学, 10 : 317, 1960.
- 3) Ishihara, K., J. Kawafuchi, K. Kano & I. Ishizaka, : Okajimas Fol. Anat. Jap., 28 : 477, 1956.
- 4) 長沢久 : 北関東医学, 10 : 339, 1960.
- 5) 黒住一昌 : 臨床科学, 1 : 284, 1965.
- 6) 中村茂 : 北関東医学, 19 : 105, 1969.
- 7) Dalton : A. J. Am. J. Anat., 89 : 109, 1951.
- 8) Shibasaki, S., K. Kobayashi & Y. Umahara : Archivum Histol. Jap., 26 : 389, 1966.
- 9) 柴崎晋 : 日本組織学記録, 21 : 251, 1961.
- 10) Helander, H. F. : J. Ultrast. Res., 10 : 160, 1964.

図1. 正常犬(無処置犬)の飢餓時胃腺主細胞。
細胞はほぼ円錐形で、核は基底側に偏在し核小体(NL)をもつ。核側部から腺腔面にかけて多数の中等度電子密度の分泌顆粒(SG)がある。Golgi装置(G)は分泌顆粒の間に見られる。Golgi層板の拡大、分泌顆粒形成像は著明でない。糸粒体(M)は細胞側壁と核周囲に見られ、粗面小胞体(ER)は層板状で、lysosome(LY)は少ない。×6,100

図2. 正常犬のcinchophen投与後胃腺主細胞。
分泌顆粒(SG)は減少し、分泌顆粒形成像は著明である。Golgi層板(GL)の拡大によるGolgi空胞(GV)の出現Golgi小胞(GS)の増加が見られ、Golgi装置の周囲には不規則形の若い分泌顆粒(IS)が多く見られる。粗面小胞体(ER)は層板状で、糸粒体(M)もみとめられる。lysosome(LY)は少ない。×10,300

図3. 下垂体基分断犬の飢餓時胃腺主細胞。

分泌顆粒 (SG) は核上部に充満している。Golgi 装置 (G) は分泌顆粒の間にみられ、Golgi 層板の拡大は著明でなく、分泌顆粒形成像も著明でない。粗面小胞体 (ER) は著明に減少し、層板状配列は疎である。糸粒体 (M) は細胞側壁および核周囲にみとめられる。×8,500

図4. 下垂体基分断犬のインシュリン投与後胃腺主細胞。

分泌顆粒 (SG) はかなり多く、その間に Golgi 装置 (G) がある。Golgi 空胞 (GV) が多数みられ、分泌顆粒形成像は著明である。不規則形の若い分泌顆粒 (IS) がみられる。粗面小胞体 (ER) は空胞状のものが多く、層板状配列はみられない。分泌顆粒の間にある小空胞 (i) は拡大した粗面小胞体囊である。×15,000

図 5. 下垂体茎断犬のcinchophen 投与後胃腺主細胞。

分泌顆粒 (SG) は核上部から細胞先端部にまで充満するが、排出像はほとんどみられない。Golgi 装置(G)では層板の拡大はほとんどみられず、分泌顆粒形成像は極めて弱い。粗面小胞体 (ER) は減少し配列は疎である。細胞先端部にはかなり多くの小空胞(L)がみえる。L: 腺腔, $\times 14,300$

図 6. 迷走神経切断犬の飢餓時胃腺主細胞。

細胞内には分泌顆粒 (SG) が充満し、核側部から基底部にまでおよんでいる。Golgi 装置(G)における分泌顆粒形成像は少ない。粗面小胞体 (ER) は比較的少なく層板状に配列している。 $\times 5,200$

図7. 迷走神経切断犬のcinchophen 投与後胃腺主細胞。

分泌顆粒 (SG) は多数見られ、Golgi 層板 (GL) の拡大は著明でないが、不規則形の若い分泌顆粒 (IS) がみられる。粗面小胞体 (ER) は扁平囊状で分泌顆粒間にみられる。×14,300

図8. 迷走神経切断犬のcinchophen 投与後胃腺主細胞。

腺腔(L)に分泌顆粒 (SG) のmicroapocrine 機序による排出像がみられる。×21,900

ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES OF CANINE GASTRIC CHIEF CELLS ON PEPSIN SECRETION INDUCED BY CINCHOPHEN

AKIRA USHIO

Department of Surgery I, Gunma University,
School of Medicine, Maebashi, Japan
(Director : Prof. Keizo Ishihara)

Electron microscopic changes in the chief cell of the canine gastric gland after cinchophen administration were investigated, as compared with those after insulin administration.

The chief cells in the normal dog in response to cinchophen decreased in secretory granules, showing a picture of increasing excretion on the luminal surface. The Golgi cisternae were enlarged, indicating a marked production of secretory granules, and rough-surfaced endoplasmic reticula showed parallel disposition in contrast with distorted irregular arrangement seen after insulin administration.

In stalk-sectioned dogs, cinchophen in contrast with insulin failed to accelerate the secretion of the gastric chief cells: There were many secretory granules, their excretion was hardly discernible in the lumen of the cells, and the Golgi cisternae were scarcely enlarged, indicating very poor production of secretory granules, and rough-surfaced endoplasmic reticula were arranged in parallel and dispersed disposition.

In vagotomized dogs, secretory granules were found numerous after cinchophen administration, and their excretion was demonstrated to a considerable degree, whereas it was scarce after insulin administration. Enlargement of the Golgi cisternae and production of secretory granules were not remarkable, and rough-surfaced endoplasmic reticula showed a parallel disposition.

It is considered from these findings that cinchophen accelerates the secretion of the gastric chief cells, and that the acceleration is inhibited strongly by pituitary stalk section and also to a lesser degree by vagotomy.