

植物抽出物の胃粘膜損傷に対する影響

高木 康之・*野呂亜沙美

(2022年2月28日受理)

Influence of plant extract against gastric mucosa injury

Yasuyuki TAKAGI・Asami NORO

要旨：This study aimed to examine the effects of plant extracts on gastric mucosa injury induced by HCl-ethanol and pylorus ligation in rats. Here, we carried out biological profiling of WEG (Water Extracts of Guarana (*Paullinia cupana*)) against antiulcer. Pretreatment with WEG at doses of 1000 mg/kg significantly inhibited gastric mucosa injury in HCl-ethanol and pylorus ligation treated rats. Significant amelioration on pathological lesion score was found in WEG groups compared with the control group ($P<0.05$). This findings suggest that WEG has gastroprotective effects against HCl-ethanol and pylorus ligation induced gastric lesions. The overall results indicate that WEG may be a promising agent for the gastritis and gastric ulcers.

Key words：plant extract gastric mucosa injury necrogenic

1. はじめに

消化管は種々の食餌性あるは薬剤性の刺激に絶えず露呈されるという過酷な環境下にある¹⁾。経口的に摂取される薬剤の中には胃粘膜に対し直接あるいは間接的に刺激を与え、その粘膜を部分的に欠損し胃のびらんや潰瘍を発生させるものがある。現在、多くの病院で胃粘膜保護の目的で各種経口剤とともに制酸剤や胃粘膜の防御因子を増強する薬剤が好んで併用されている²⁾。そこで、服用時の抵抗感が少なく生体への副作用が少ない植物抽出物の壊死惹起性物質に対する胃粘膜への影響について、Guarana (*Paullinia cupana*) 種子より水抽出法で得られた抽出物（以下WEG）を用いて検討したので報告する。

2. 方法

HCl-ethanol胃粘膜損傷実験は、Mizuiら³⁾の方法に準じた。Wistar系雄性ラット9週齢を48時間絶食させた後、60 % (v/v) Ethanol in 150 mM HClを

1 ml/200gBW経口投与した。1時間後、ラットを屠殺して胃を摘出し1 % Formalin液7 mlを胃内注入して固定した後、胃袋を切り開き胃体部に生じた損傷面積 (mm²) をエリアカーブメータで測定した。検体群はWEGを蒸留水に溶解させ、60 % (v/v) Ethanol in 150 mM HCl投与の30分前に1000 mg/kg経口投与した。

胃酸度測定実験は、Wistar系雄性ラット9週齢を24時間絶食させた後、エーテル麻酔下に胃の幽門部を結紮した。6時間後、ラットを屠殺して胃を摘出し胃内に貯留した胃液を採取し、胃液量・pH値・酸排泄量（総酸度）を測定した。総酸度の測定は、濾過した胃液2 mlに指示薬として0.5 % Methyl yellow 溶液と1 % Phenol phthalein溶液を1滴ずつ加え、0.02 N-NaOHで滴定した。胃液が赤桃色を呈したとき、NaOHの消費mlの10倍した値を総酸度 mEq/Lとした。検体群はWEGを蒸留水に溶解させ、幽門部結紮直後に500 mg/kg経口投与した。

*三重大学大学院 医学系研究科

幽門結紮胃潰瘍実験は、Shayら⁴⁾の方法に準じた。Wistar系雄性ラット9週齢を48時間絶食させた後、エーテル麻酔下で開腹し幽門部を結紮した。結紮18時間後、ラットを屠殺して胃を摘出後に胃袋を切り開き、胃に生じた潰瘍の面積 mm^2 を実体顕微鏡下で測定した。検体群はWEGを蒸留水に溶解させ、幽門部結紮直後に1000 mg/kg経口投与した。

実験より得られた結果の統計学的有意性はStudentのt-検定を用い、危険率5%未満で有意と判定した。

3. 結果と考察

HCl-ethanol胃粘膜損傷実験は壊死性損傷が発生した。検体群の損傷は潰瘍まで至らず粘膜損傷にとどまり、対照群に対して有意な損傷抑制を示し、抑制率は39.3%であった (Table 1)。対照群はびらん形成が肉眼でも明らかであったのに対し、検体群はびらん形成が一部に留まったことが観察された。病理学的には組織欠損が粘膜内に限られる場合をびらんといい、粘膜下組織以下の欠損を潰瘍という⁵⁾。胃粘膜のびらんや潰瘍は生理的には塩酸などの攻撃因子と粘膜障壁などの防御因子との間の平衡状態がおかれたものである⁶⁾。消化性潰瘍の成因論については、Shay and Sunの天秤学説が一般的なものと理解されている。すなわち、胃粘膜に影響を及ぼす因子を攻撃因子と防御因子に大別し両因子のバランスの破綻により潰瘍が発生する (Fig. 1)。近年の消化器病学の進歩により、天秤の骨格そのものに大きな変化はないものの、消化管ホルモンやプロスタグランジン (以下PG) などの調節因子が両者に関与しているとされ、その影響が詳細に検討されている。攻撃因子は酸、ペプシン、ガストリン、壁細胞の増生などが、防御因子は粘液バリアー、粘膜抵抗、

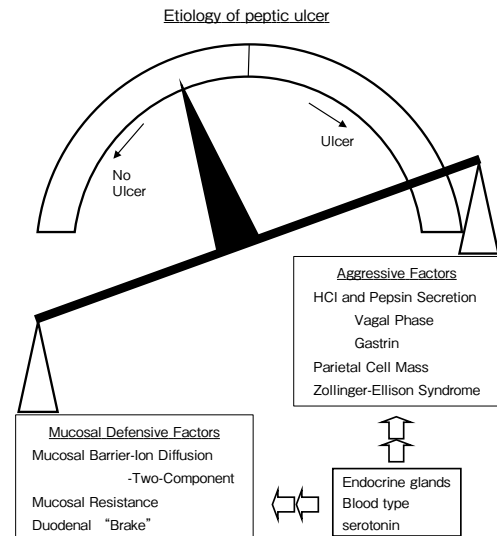


Fig. 1 Bockus 2nd Edition Balance Map (Sun & Shay)

粘膜血流、十二指腸ブレーキなどがあげられる。胃液には塩酸とペプシンが含まれており、胃酸分泌を行う壁細胞の増生は消化管粘膜に攻撃的に働き、最も強力な酸分泌刺激ホルモンであるガストリンは、胃底腺粘膜の細胞新生を増加させると同時に総壁細胞数を増加させることが知られている。攻撃因子から粘膜を保護するのが防御因子である。胃の粘膜は、酸を緩衝しペプシンの細胞表面への接触を阻止する。粘膜細胞の機能を保持させる粘膜血流が停止すれば胃粘膜防御因子のすべてが停止する。胃から腸へ送られた食物のうち脂肪、炭水化物あるいは酸によりセクレチンなどの消化管ホルモンが分泌され、胃液の分泌が抑制されるのが十二指腸ブレーキである。セクレチンは主として十二指腸に分布するS細胞により産生分布されfeed back機構による胃酸分泌作用を有するが粘膜防御機構の増強作用も有することが報告されている。胃粘膜の防御

Table 1 Effect of WEG on HCl-ethanol induced gastric mucosa injury in rats.

Treatment	Dose mg/kg, p.o.	Lesion index (mm^2)	Inhibition
		Mean \pm SE	%
Control	—	252.7 \pm 13.7	—
WEG	1000	153.5 \pm 11.4 ^{a)}	39.3

Gastric injury was produced by oral administration of 1 ml/ 200 g body weight of 60 % ethanol (v/v) in 150 mM HCl-ethanol to 48hr fasted rats.

Each sample was administered 0.5 hr before the administration of HCl-ethanol.

Significantly different from control at a) $p < 0.05$ (No. of rats = 5).

機構に關与する仕組みとして交感神経、副交感神経、PG (PGE₂, PGI₂) などがあり、特にPGはそのcytoprotection作用で注目されている⁷⁾。PGとは生体における生理活性物質の一つで攻撃因子と防御機構との間に存在し両者に影響を与え、あらゆる組織において様々の生理活性を發揮し、細胞、組織ひいては生態の恒常的維持に重要な役割を果たしている。胃においては胃酸分泌抑制および胃粘膜保護作用を有している⁸⁾。本実験結果では、胃体部損傷は潰瘍までいたらず粘膜損傷にとどまったことから、WEGはPGへの關与と胃粘膜の防御機構に作用し、攻撃因子と防御因子の平衡状態に資する示唆が得られた。

胃液検査は胃の機能をみる重要な指標のひとつとして古くから臨床的に取り上げられ、特に胃酸の測定については、消化性潰瘍の病因論的な立場から関心が持たれ広く普及してきた⁹⁾。胃液分泌刺激剤としてアルコールやカフェインなどが古くから用いられ⁹⁾、カフェインを胃内投与することで、胃酸分泌が促進することが報告されている¹⁰⁾。Guaranaにはコーヒーの5倍のカフェインが含まれている¹¹⁾。本実験でWEGは胃酸分泌を抑制するのかを確かめるため胃酸度測定を行った結果、WEG投与による胃液量に対する有意な差は見られなかった (Table 2)。RobertらはPG類が胃液分泌に影響を及ぼさない容量で、無水ethanol、熱湯などの経口投与による胃損傷を抑制する作用をcytoprotectionと呼んだ⁸⁾。cytoprotectionの意味するところは、細胞あるいは組織を障害から護ることである¹²⁾。本実験でWEG投与による胃液量に対する有意な差は見られず、WEGが胃液分泌に影響の及ぶ可能性が薄いことやHCl-ethanol胃粘膜損傷実験で検体群の

損傷が対照群に対して有意な損傷抑制を示したことから、WEGにPG類と同様に胃損傷を抑制するcytoprotective作用の示唆が得られた。胃液のおもな成分は塩酸とペプシンである。酸とペプシンの存在は潰瘍の発生に必須であるとされ、酸のみでは消化管の表層性変化を示すにすぎず、ペプシンの存在により深い潰瘍に進展するとされる¹³⁾。pH値の測定結果では、WEG投与によるpH値に有意な抑制が見られた (Table 2) ため、WEGに胃内に分泌された攻撃因子で不活性型ペプシノーゲンを活性型ペプシンへ変換する塩酸の生理作用やペプシンおよびその前駆体であるペプシノーゲンの活性化による至適pHの維持に資する示唆が得られた。胃酸排泄量の測定結果については、WEGは酸排泄量に対して有意な差が見られた (Table 2) ため、WEGはカフェインの胃酸分泌の促進より強い胃酸排泄の抑制が示唆される。胃酸分泌調節機構において胃酸の分泌は、自律神経系、中枢神経系ならびにホルモンなどにより制御されており¹⁴⁾、消化管の自立神経で中枢神経系に由来する交感神経、副交感神経のような外来性神経は、酸と粘液の分泌、粘膜血流、運動に影響をおよぼすと考えられる¹⁵⁾ ことから、WEGは外来性神経の活性化に資する示唆が得られた。

幽門結紮胃潰瘍 (Shay rat) は1945年Shayらにより発表されて以来、潰瘍の成因および胃液分泌機構の研究、潰瘍治療薬の効力検定などに現在最も汎用されている急性潰瘍であり、潰瘍発生率の高い点、手法が簡便であるなどの利点を有する¹⁶⁾。原法による成績報告では、前胃部の潰瘍は結紮後17~19時間で約94 %の発生率である¹⁷⁾。本実験における対照群は、組織欠損がひどく広範囲にわたり損傷し穿孔が観察され原法による成績に近い結果が得られ、

Table 2 Effect of WEG on gastric secretion in pylorus ligation in rats.

Treatment	Dose mg/kg, p.o.	Gastric juice		acid output(mEq/L)
		Vol.	pH	
Control	—	2.74 ± 0.44	1.60 ± 0.05	82.4 ± 7.90
WEG	500	3.20 ± 0.37	2.36 ± 0.22 ^{a)}	64.4 ± 4.10 ^{a)}

Pylorus ligation was performed in 24hr fasted rats. Animals were killed 6hr after pylorus ligation. Test samples were given immediately after the pylorus ligation.

All values represent the mean ± S.E. Significantly different from control at a) $P < 0.05$ (No. of rats = 5).

Table 3 Effect of WEG and Sucralfate on gastric ulcer induced by pylorus ligation in rats.

Treatment	Dose mg/kg, p.o.	Ulcer index (mm ²)	Inhibition
		Mean \pm SE	%
Control	—	4.8 \pm 0.4	—
WEG	1000	2.7 \pm 11.4 ^{a)}	43.8
Sucralfate	200	0	100

In rats tested for 48hr, the pylorus was ligated the animals were scarified 18hr after pylorus ligation. Test samples were given immediately after ligation. Significantly different from control at a) $P < 0.05$ (No. of rats = 5).

Sucralfate投与群は200 mg/kgの投与量で100 %の潰瘍抑制を示した (Table 3)。Sucralfate (シヨ糖硫酸エステルアルミニウム) は消化性潰瘍の治療に用いられる抗ペプシン薬で¹⁸⁾、胃潰瘍治療薬の中では粘膜抵抗強化作用を有する防御因子増強薬である¹⁹⁾。検体群の損傷は前胃部に潰瘍形成が一部観察にとどまり、対照群に対して有意な潰瘍抑制を示し、抑制率43.8 %であった (Table 3) ことから、WEGに微力であるがSucralfateと同様に防御因子を増強する機能を有する示唆が得られた。

4. まとめ

植物抽出物の壊死惹起性物質に対する胃粘膜への影響について *in vivo* にて検討した結果、WEGは胃粘膜の防御機構に作用し攻撃因子と防御因子の平衡状態に資することで本来、胃粘膜がもっている恒常性を維持しようとする働きを増強することに期待できる。

参考文献

- 1) 竹内孝治, 加藤伸一, 田中晶子, プロスタグランジンを巡って—分子薬理から創薬まで— プロスタグランジンEによる胃腸粘膜保護とEP受容体, *Folia Pharmacol. Jpn.* 117, pp.274-282 (2001)
- 2) 田中昭吉, 古川哲也, 安達恭祐他, 各種実験潰瘍における消化器系作用剤の胃粘膜防御効果と薬剤吸収に対する影響, *IRYO Vol.42(7)* pp.591-595 (1988)
- 3) T Mizui, M Doteuchi, Effect of Polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats, *Jpn J Pharmacol.* Vol.33 pp.939-945 (1983)
- 4) Shay, H., Komorov, S. A., Fels, S. S., Moranze, D., Gruenstein, M., & Sipler, H.: A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology*, 5, pp.43-61 (1945)
- 5) 糸川嘉則, 岩崎良文, 「臨床栄養学」改定第3版, 南江堂, (1999)
- 6) Brodie, DA., Experimental peptic ulcer. *Gastroenterology*, 55(1) pp.125-134 (1968)
- 7) 田中昭吉, 吉川哲也, 安達恭祐他, 各種実験潰瘍における消化器系作用剤の胃粘膜防御効果と薬剤吸収に対する影響, *IRYO Vol.42(7)*, pp.591-595 (1988)
- 8) Robert A, Nezamis JE, Lancaster C and Hanchar AJ, Cytoprotection by prostaglandins in rats, Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury, *Gastroenterology*, 77, pp.433-443 (1979)
- 9) 中沢三郎, 小島康彦, 服部外志之他, Tetragastrin刺激による胃酸分泌能の臨床的検討, 日本消化器病学会雑誌, 第71巻, 第5号, pp.463-471 (1974)
- 10) J. A. Roth, and A. C. Ivy, THE EFFECT OF CAFFEINE UPON GASTRIC SECRETION IN THE DOG, CAT AND MAN, *Am. J. Physiol.*, 141, pp.454-461 (1944)
- 11) 芦沢安平, グワラナについて, 熱帯農業 7巻4号, pp.184-188 (1964)
- 12) 檜垣和孝, cytoprotectionの機構に関する最近の知見, 薬物動態, *Xenobio. Metabol. and Dispos.* 16(2), pp.157-159 (2001)
- 13) 井上正規, 消化性潰瘍: 診断と治療の進歩, 日本内科学会雑誌, 第84巻, 第6号, pp.3-8 (1995)
- 14) 松田宗人, 蟹田理英, 筒井夫美子他, 小柴胡湯のラット胃炎・胃潰瘍モデルの対する作用, *Folia Pharmacol. Jpn.*, 108, pp.217-225 (1996)
- 15) 竹本忠良, 稲本善人, 消化性潰瘍の成因と病態, 日本内科学会誌, 第80巻, 第1号, pp.9-17 (1991)
- 16) 石井靖男, 藤井佑一, 幽門結紮ラット (Shay rat) 法による数種抗潰瘍薬の検定, *Folia pharmacoi. Japon.* 70, pp.863-869 (1974)
- 17) Shay H, Komarov SA, Fels SS et al., A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat., *Gastroenterology* 5: pp.43-61 (1945)
- 18) 鈴木正彦, 新クイックマスター薬理学改訂2版, (2005)
- 19) 胃潰瘍ガイドラインの適用と評価に関する研究班: EBMに基づく胃潰瘍診療ガイドライン第2版—H. pylori 二次除菌保険適用対応—, じほう, (2007)