

実験胃潰瘍治癒過程の粘液組織化学的検討

杉 山 敦

信州大学医学部第1外科学教室
(主任: 幕内 雅敏教授)

Histochemical Study of Mucins on the Healing Process of Experimental Gastric Ulcers

Atsushi SUGIYAMA

Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Masatoshi MAKUUCHI)

The present study was undertaken to elucidate the healing process of ulcer in the fundus of 102 stomachs of the Wistar rat, including 6 as control. The area of ulcer reduced through 3 to 28 days but recurrence of ulcer was observed after 56 days. Employing various histochemical techniques to characterize mucosubstances, on the third day after inducing ulcer by applying acetic acid on the serosa of the stomach, mucus neck cell (MNC)- and chief cell (CC)-granules were almost disappeared in the mucosae adjacent to the ulcer. On the seventh day, MNC and its mucin increased considerably and occupied the most part of the glandular portion. Around this area, the transitional cells between MNC and CC increased markedly. MNC-type mucins frequently coated the eroded surfaces in the early stages of healing. Pseudopyloric glands appeared after 14 days but CC reappeared only after 168 days. Regenerated mucous cells including the surface mucous cells and MNCs showed characteristic lectin reactivities of the pyloric mucosa but lost them when the healing process was completed. It was suggested that MNCs and its mucin played an important role in the healing process of the gastric ulcer, and "pylorization" occurred in the regenerative mucosa in the fundus. *Shinshu Med. J.*, 38: 363-379, 1990
(Received for publication February 8, 1990)

Key words: experimental gastric ulcer, gastric mucin, histochemistry, mucus neck cell, regenerative mucosa

実験的胃潰瘍, 胃粘液, 組織化学, 副細胞, 再生粘膜

I 緒 言

胃粘膜防御機構における粘液の重要性が古くから注目され、多くの検討がなされてきた¹⁾⁻⁷⁾。粘液の組織化学的研究には従来、糖質内の近接水酸基を検出するPAS反応や、酸性基に親和性を示す塩基性色素による染色が行われ、表層粘液細胞を中心に研究が進められてきた。しかし、胃のもう1つの粘液産生細胞

である副細胞や幽門腺などの腺上皮の産生する粘液の働きについては、検討方法の難しさもあり、ほとんど解明されていないのが現状である。最近の粘液組織化学的方法の進歩によって、細胞の種類に特徴的な粘液や糖残基、たとえば副細胞や胃表層粘液細胞型の粘液の同定、さらに、レクチンによる糖鎖の分析などが可能となった⁸⁾。

また、研究対象となった胃粘膜病変は、ストレスや

薬物などによる急性かつびまん性のものが多く、消化性潰瘍に代表される慢性経過をとる限局性病変での粘液の組織化学的研究⁹⁾¹⁰⁾は限られている。

このような観点から本研究では、実験的胃潰瘍の経過を長期にわたり観察し、各種の粘液組織化学的手法を用いて、潰瘍辺縁および再生粘膜の糖鎖構造の変化を検討した。さらに、壁細胞抗体の応用や、主細胞分泌顆粒の検出を加えて、再生粘膜内では特に困難である細胞種の正確な同定を試み、副細胞を中心とした腺細胞の動態についても明らかにした。

II 材料と方法

生後8週(体重150g前後)のWistar系雄性ラット102匹を用いた。24時間絶食後、6匹を脱血致死せしめ胃を摘除し、正常粘膜所見とした。他の96匹はネンブタールを50mg/kg腹腔内投与したのち開腹し、Okabeら¹¹⁾の方法に準じて、胃体部前壁漿膜面に内径9mmの円形ガラス管を押しあて、氷酢酸0.2mlを90秒間作用させた。その後酢酸を除去し、漿膜面をドライヤーで乾燥後閉腹した。水道水およびCE-2固形飼料(日本クレア、東京)を自然摂食させて、金属ケージ内で飼育した。酢酸処置後3, 7, 10, 14, 21, 28, 56, 168, 224日目に24時間絶食の後、午後のほぼ一定時刻(14~16時)に脱血致死せしめた。摘出した胃を大弯で切開し、肉眼的に潰瘍の治癒の有無を観察し、実体顕微鏡下にマイクロメーターで潰瘍の長径および短径を測定し、長径×短径mm²を潰瘍係数とした。潰瘍係数の統計学的有意差の検定は、Student's t testを用いて行った。ただちに4°C 20%中性磷酸緩衝ホルマリン液で24時間固定後、胃前壁潰瘍部および後壁対称部を長軸方向に切り出し、型のごとく脱水、透徹後パラフィンに包埋した。パラフィンブロックから厚

さ3μmの連続切片を作成し、以下に述べる染色を行った。組織化学的反応は、各群(5~16検体)ごとに共通して認められる所見を記載し、陽性反応の強さを3, 2, 1の3段階に主観的に評価した。細胞種の判定はHE染色像を基本に各組織化学的所見を総合して行った。

- 1 Hematoxylin Eosin (HE) 染色
- 2 Alcian blue pH2.5-periodic acid Schiff (AB-PAS) 重染色¹²⁾
- 3 High iron diamine-Alcian blue pH2.5 (HID-AB) 重染色¹³⁾
- 4 Galactose oxidase-Schiff (GOS) 反応¹⁴⁾

Polyporus circinatus 由来のgalactose oxidaseは、galactoseあるいはN-acetylgalactosamineのC-6位を酸化してアルデヒドを産生するので、これをSchiff反応で検出した。消化管では胃の被覆上皮にのみ反応を示すとされる。galactose oxidaseはSigma社(St. Louis, Missouri, U.S.A.)の製品を用いた。

- 5 Paradoxical Concanavalin A stain (PCS)¹⁵⁾

過ヨウ素酸による酸化および水酸化ホウ素ナトリウムによる還元を行ったのち、*Canavalia ensiformis* agglutinin (Con A) を作用させると、一部の上皮性粘液のCon A反応性が特異的に高まる。これをⅢ型粘液と呼ぶ。Con AはSigma社(St. Louis, Missouri, U.S.A.)、Horseradish peroxidaseは東洋紡(大阪)、発色用のDAB(3,3'-diaminobenzidine-tetra-hydrochloride)は同人化学(熊本)の製品をそれぞれ用いた。

- 6 PCS-Bowie 重染色¹⁶⁾

主細胞の分泌顆粒を染色するBowie染色¹⁷⁾の非特異的反応をFeulgen処理により除き、またPCS染

表1 レクチンの結合特異性と調整濃度

レクチン	略号	結合特異性	調整濃度
<i>Canavalia ensiformis</i> agglutinin	Con A	α -D-Man α -D-Glc	1mg/ml
<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin	DBA	α -D-GalNAc	10μg/ml
<i>Arachis hypogaea</i> (peanut) agglutinin	PNA	β -D-Gal-(1-3)-D-GalNAc	30μg/ml
<i>Griffonia simplicifolia</i> agglutinin-I B4	GSA-I B4	α -D-Gal	20μg/ml
<i>Griffonia simplicifolia</i> agglutinin-II	GSA-II	β -D-GlcNAc= α -D-GlcNAc	10μg/ml
<i>Glycine max</i> (soybean) agglutinin	SBA	α -D-GalNAc β -D-GalNAc	10μg/ml
<i>Ulex europeus</i> agglutinin-I	UEA-I	α -L-Fuc	30μg/ml

結合糖成分の略号; Man: mannose Glc: glucose GalNAc: N-acetylgalactosamine
GlcNAc: N-acetylglucosamine Fuc: fucose

色との重染色を可能にした。

7 Horseradish peroxidase 標識レクチン染色

Dolichos biflorus agglutinin (DBA), *Aracis hypogaea* agglutinin (PNA), *Griffonia simplicifolia* agglutinin-I B4 (GSA-IB4), *Griffonia simplicifolia* agglutinin-II (GSA-II), *Glycine maxinus* agglutinin (SBA), *Ulex europeus* agglutinin-I (UEA-I) の6種類を用いた。レクチン液への浸漬時間および温度、緩衝液の種類、発色液のdiaminobenzidine (DAB) および H₂O₂ の濃度について改めて検討し、ほぼ従来の方法¹⁸⁾¹⁹⁾に従った。今回使用したレクチン (E. Y. 社, San Mateo, California, U. S. A.) の糖鎖結合特異性とレクチン液の調整濃度を表1に示す。

8 壁細胞染色²⁰⁾

ヒト悪性貧血患者血清中に存在する自己抗体を1次抗体に用いて酵素抗体法(間接法)で壁細胞を染色した。

III 結 果

A Wistar 系雄性ラット正常胃粘膜所見

表2に正常胃粘膜の染色性を一括して示した。噴門

部は組織化学的所見が幽門部と同一の所見を示した。

(1) HE 染色所見：胃体部には壁細胞、主細胞、および副細胞が存在するが(図1 a), 腺頸部、固有胃腺に HE 染色のみでは細胞種が確定できない細胞が見られた。

(2) AB-PAS および HID-AB 染色所見：表層粘液細胞は、AB-PAS 染色で深紅色に染まり大量の粘液を含んでいた(図1 b)。ほとんどが中性粘液であるヒトと異なり、表層粘液細胞の浅層では HID-AB 染色で青く染まるシアロムチンを、胃小窩では黒く染まるスルフォムチンを含んでいた(図1 c)。

副細胞が含有する粘液は AB-PAS 染色で赤に染まる中性粘液で、酸性粘液は上部の副細胞にスルフォムチンを僅かに認めるのみであり、シアロムチンは見られなかった。主細胞は軽度な PAS 反応性を示すが、好塩基性を欠き、壁細胞はほとんど染色されなかった。幽門腺には副細胞と異なりシアロムチン、スルフォムチン双方が存在した。

(3) PCS および PCS-Bowie 染色所見：PCS でIII型粘液¹⁵⁾を持つ副細胞、幽門腺、および噴門腺が褐色に染色された。PCS は、粘液の酸性度とはまったく関係がなかった。PCS-Bowie 染色ではIII型粘液が褐

表2 正常胃粘膜の組織化学的所見 (Wistar 系雄性ラット)

	胃 体 部						幽門部および噴門部		
	表層粘液細胞		副 細 胞		壁細胞	主細胞	表層粘液細胞	胃小窩深部	幽門腺および噴門腺
	表面	胃小窩	腺頸部上部	腺頸部下部					
AB-PAS	3 M	3 M	2 R	2 R	—	—~1 R	3 M	2 M	2 P
HID-AB	1 BN	1 N	—~1 N	—	—	—	1 BN	—	2 BN
PCS	—	—	3 Br	3 Br	—	—	—	—	3 Br
PCS-Bowie	—	—	3 Br	3 Br	—	3 B	—	—	3 Br
GOS	—~1 R	—	—	—	—	—	—	—	—
壁細胞染色	—	—	—	—	2~3Br	—	—	—	—
DBA	—	—	—	—	—~3Br	—	2 Br	2 Br	3 Br
PNA	—	—	2 Br	2 Br	1~2Br	—	—	—	2 Br
GSA-I B4 (注3)	1 Br	1 Br	1 Br	1 Br	3 Br	—	1 Br	—	1 Br
GSA-II	—	—	2 Br	2 Br	—	—	—	—	2 Br
SBA	2 Br	2 Br	2 Br	2 Br	3 Br	—	2 Br	2 Br	3 Br
UEA-I	2 Br	2 Br	2 Br	2 Br	—~3Br	—	2 Br	2 Br	3 Br

B=青, Br=褐色, M=深紅色, N=黒, P=紫, R=赤 染色の強さを1,2,3の3段階に主観的に評価した。—=染色性なし。注1：壁細胞の DBA 染色は深部および浅層に強く、中間層は染色されない。注2：UEA-Iは基底層近傍の壁細胞に強い結合性をもつ。注3：GSA-I B4は幽門腺、表層粘液細胞、副細胞のGolgi野に僅かな結合性をもつ。

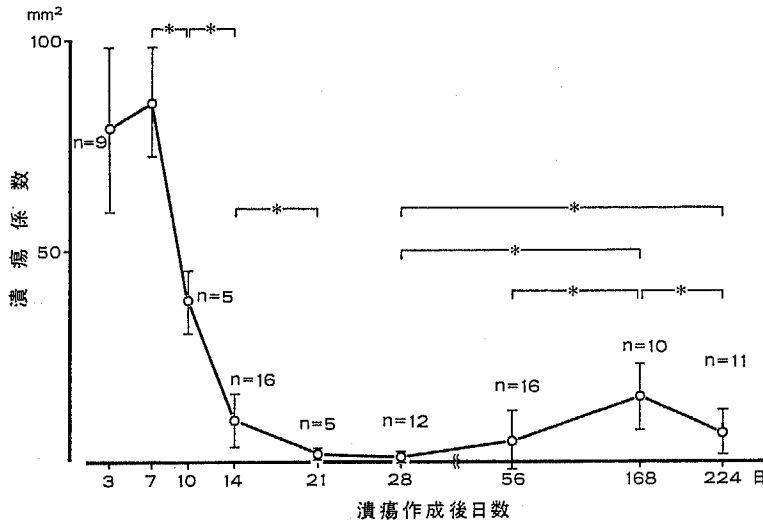


図2 ラット酢酸潰瘍の潰瘍係数の変化

潰瘍係数は7日目に最大値をとり、以後急速に減少し、28日目に最小値となった。56日目には増加傾向が認められ、168日目に明らかな再発がみられた。

mean±SD, * p<0.01

色に染色されるのに対し、主細胞の分泌顆粒が濃い青に染色された(図1 d)。副細胞の分布する腺頸部と主細胞の分布する腺底部の境界には、副細胞型粘液顆粒と、主細胞分泌顆粒の両者を含んだ細胞がごく少数(6~7個/10腺管)認められた(図1 d)。

(4) GOS 反応所見: 胃体部表層粘液細胞の表面がごく僅かな反応を示すのみで、幽門部の表層粘液細胞とは反応しなかった(図1 e)。

(5) 壁細胞染色所見: 腺頸部でやや染色性が弱いものの、壁細胞すべてが褐色に染色された(図1 f)。

図1 Wistar 系ラット正常胃粘膜所見(体部)

- a HE 胃体部に、表層粘液細胞と、管状腺を形成する壁細胞、主細胞および副細胞が見られるがHE染色のみでは細胞種の確定できない細胞が存在する。
- b AB-PAS 副細胞の含む粘液は中性粘液が主体である。
- c HID-AB 副細胞内の酸性粘液は、上部の副細胞に僅かなスルフォムチンを認める。
- d PCS-Bowie 副細胞が褐色に、主細胞の分泌顆粒が濃い青に染色される。
- e GOS Wistar 系ラットの表層粘液細胞にはほとんど反応がみられない。
- f 壁細胞染色 すべての壁細胞が褐色に染色された。
- g DBA 壁細胞の一部に結合性を持つが、胃体部の表層粘液細胞および副細胞とはまったく結合しない。
- h PNA 副細胞および壁細胞に結合し、表層粘液細胞には結合性がない。
- i GSA-I B4 壁細胞に結合がみられる。表層粘液細胞、副細胞のGolgi野も弱い結合を示す。
- j GSA-II 副細胞に結合性があり、PCSと似た染色性を示す。
- k SBA 表層粘液細胞と腺細胞に幅広い結合性を示す。
- l UEA-I SBAと似た結合性を示したが、特に腺管最深部の壁細胞と強く結合する。×33

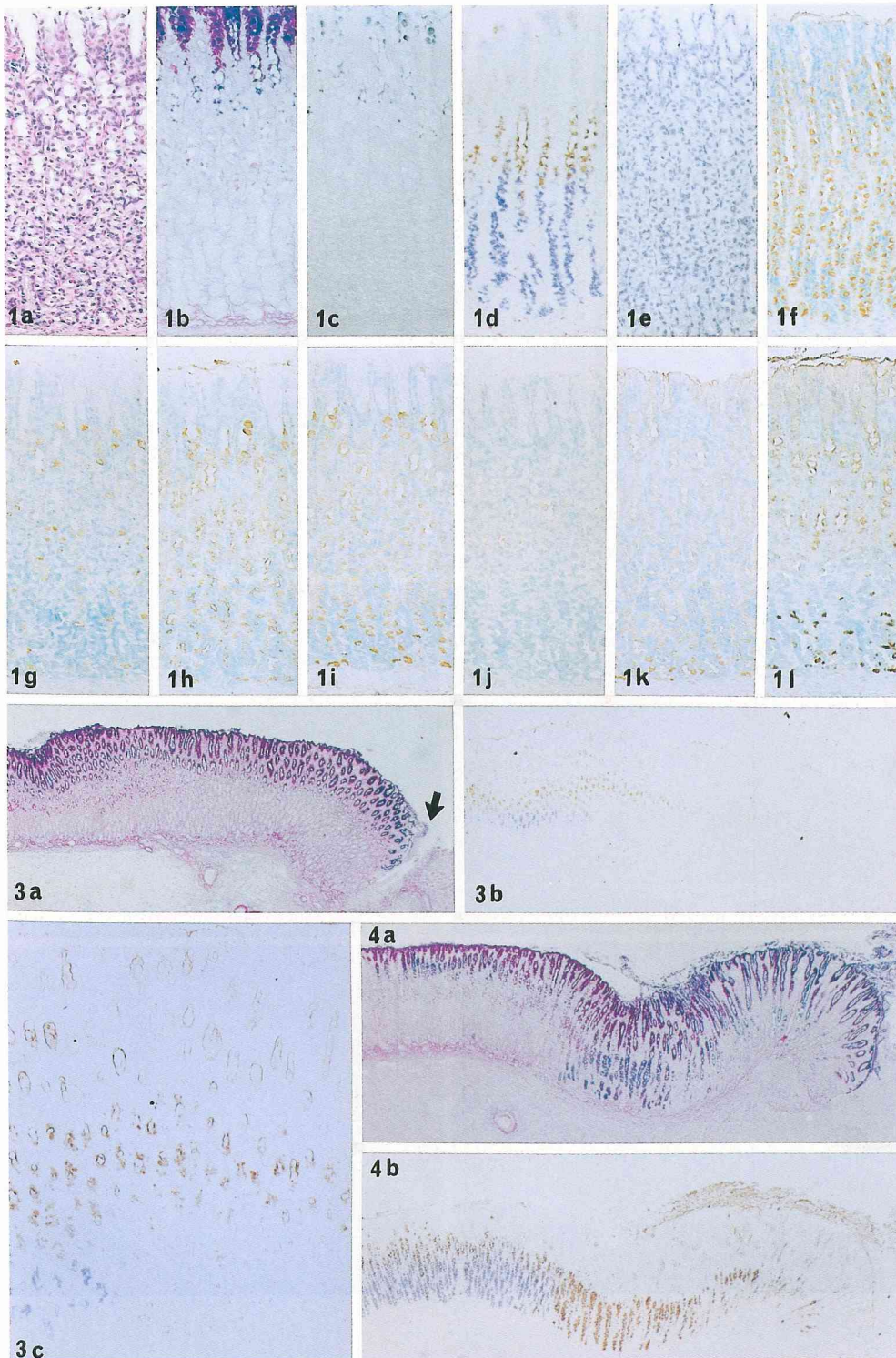
図3 潰瘍作成後3日目の所見

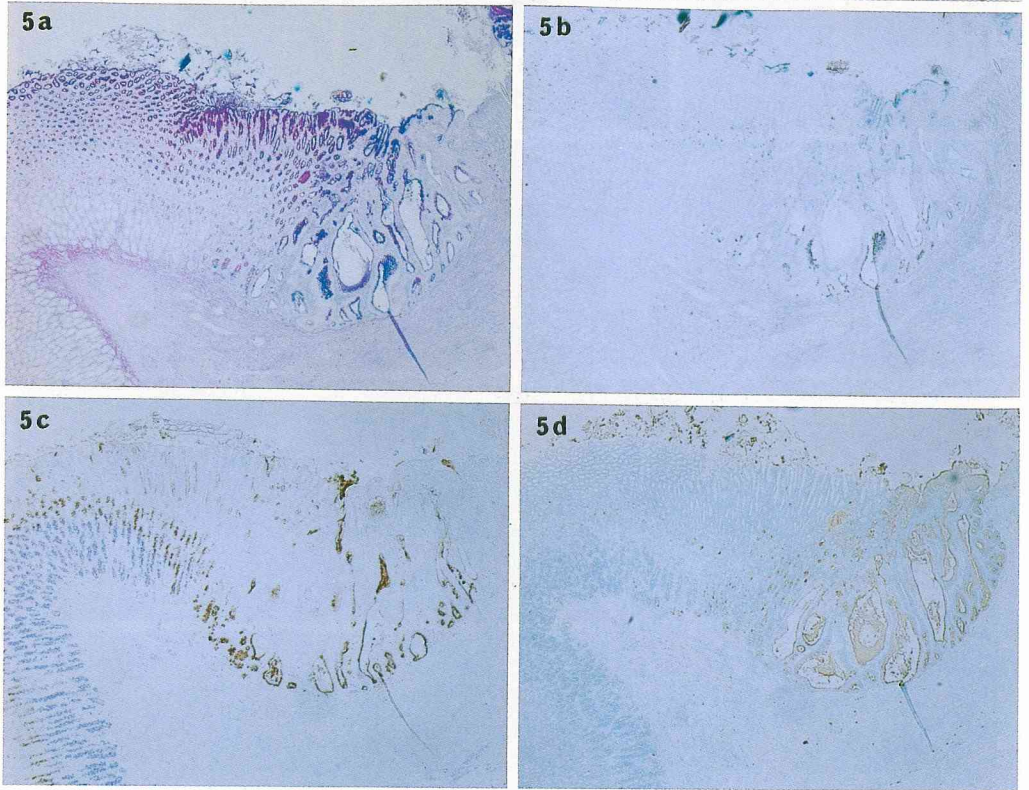
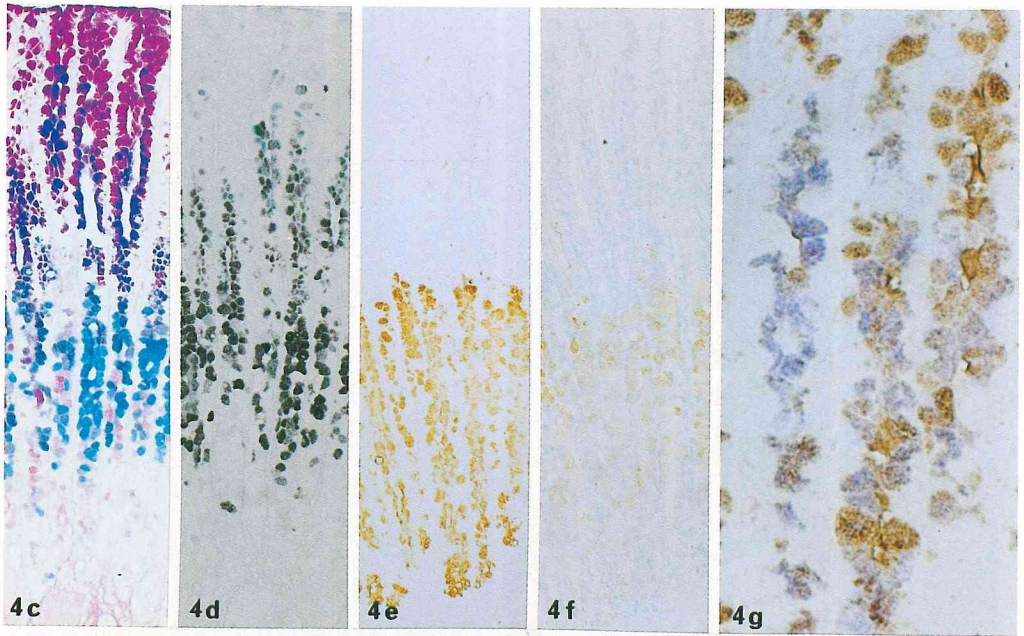
- a AB-PAS 右端の矢印部分が潰瘍辺縁である。
- b PCS-Bowie×10 aと同一部位
- c PCS-Bowie×40 bの中央部分を拡大した。潰瘍周辺で、主細胞および副細胞の分泌顆粒が減少あるいは消失し、腺腔内に分泌されたPCS陽性粘液が僅かに認められる。

図4 潰瘍作成後7日目の所見

- a AB-PAS b PCS-Bowie×10 潰瘍周辺で主細胞が減少し、副細胞数の増加が認められる。

胃潰瘍治癒過程の粘液組織化学





(6) レクチン染色所見: DBA は幽門部と噴門部の表層粘液細胞, 噴門腺および幽門腺に明らかな結合性がみられたが, 胃体部表層粘液細胞および副細胞とはまったく結合しなかった(図1g)。DBA は壁細胞に対しても結合性を示したが, 深部および腺頸部に強く, 中間部は反応せず, 壁細胞のもつ糖鎖の構造は部位によって異なっていた。

PNA は副細胞, 壁細胞, および幽門腺に結合し表層粘液細胞には反応しなかった(図1h)。

GSA-I B4 は壁細胞に強く結合した(図1i)。表層粘液細胞, 副細胞 および 幽門腺の反応は弱く, Golgi 野に僅かな反応があったのみで apical cytoplasm は染色されず, DBA とは結合性が異なっていた。

GSA-II は副細胞(図1j), 幽門腺, および噴門腺に結合性があり PCS と似た反応を示した。

SBA は表層粘液細胞と腺細胞に幅広い結合性を示した(図1k)。

UEA-I も SBA と似た結合性を示したが, 特に最深部の壁細胞と強く反応した(図1l), ヒトと異なり血管内皮との結合性は見られなかった。

B 酢酸潰瘍治癒過程所見

1 肉眼所見および潰瘍係数の変化

潰瘍作成3日目には, 白苔に覆われ境界明瞭な, 円形ないし楕円形の潰瘍が見られた。潰瘍はすべて肝臓下面に穿通していたが, 死亡例はなかった。潰瘍係数は, 7日目に最大値 $86 \pm 13 \text{mm}^2$ (mean \pm SD) となるが, 14日目 $10 \pm 6 \text{mm}^2$, 21日目 $2.2 \pm 1.3 \text{mm}^2$ と減少し, 28日目に最小値 $1.2 \pm 1.3 \text{mm}^2$ となった。56日目には $5.7 \pm 8.7 \text{mm}^2$ と潰瘍係数の増加傾向が認められ, 168日目 $15.8 \pm 8.6 \text{mm}^2$, 224日目 $6.5 \pm 4.8 \text{mm}^2$ と明らかな再発が認められた(図2)。なお, 肉眼的に治癒

したと認められる例は, 28日目には12例中5例(42%)であったのに対し, 168日目には10例中1例(10%), 224日目では11例中2例(18%)であった。

2 組織学的ならびに組織化学的所見

a 潰瘍作成後3日目の所見

(1) HE 染色所見: 酢酸作用部の胃壁全層が壊死に陥って潰瘍を形成しており, その一部に壊死に陥った粘膜が残存していた。壊死部と周辺部の境界は明瞭で酢酸潰瘍は正確に体部粘膜内であることが全例確認できた。酢酸作用部周辺粘膜では粘膜下層を中心に炎症性細胞浸潤がみられた。再生粘膜は認められず, 酢酸作用部から3.0mm以上はなれた部(以下遠位とする)および後壁には明らかな変化はみられなかった。

(2) AB-PAS および HID-AB 染色所見: 表層粘液細胞内の粘液は中性粘液, 酸性粘液ともに酢酸作用部周辺で顕著に減少していた(図3a)。遠位および後壁では無処置正常粘膜とくらべ, 軽度の減少が認められた。副細胞の中性粘液は酢酸作用部周辺でほとんど完全に消失していた(図3a)。

(3) PCS および PCS-Bowie 染色所見: 酢酸作用部周辺で副細胞型粘液(Ⅲ型粘液)がほとんど完全に消失し, 腺腔内に僅かな反応が認められた。この副細胞型粘液消失部とはほぼ同様の範囲で主細胞の分泌顆粒も消失していた(図3b, 3c)。遠位および後壁での副細胞型粘液ならびに主細胞顆粒の減少は認められなかった。

(4) GOS 反応所見: 表層粘液細胞の GOS 反応はきわめて微弱であった。

(5) 壁細胞染色所見: 酢酸作用部周辺で染色性がやや減ずるが, 壁細胞の数および壁内の分布は酢酸作用部辺縁まで正常粘膜と同様であった。

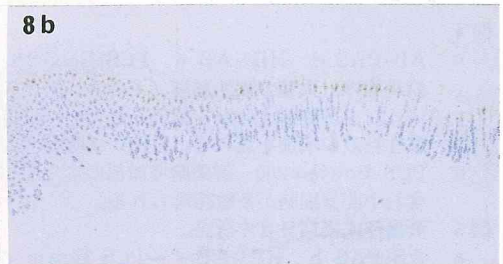
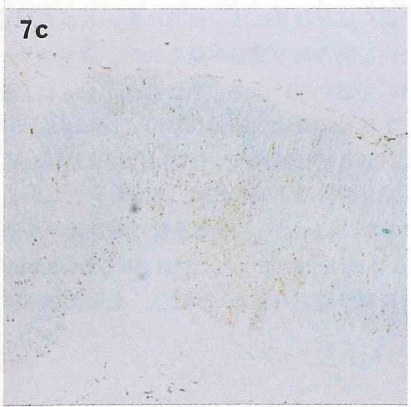
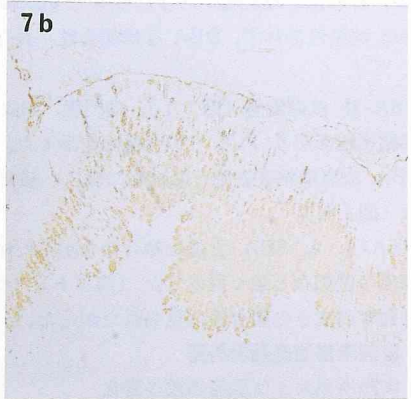
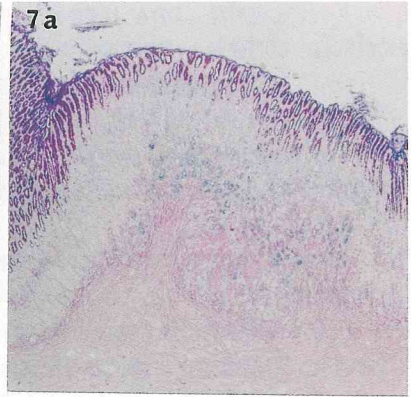
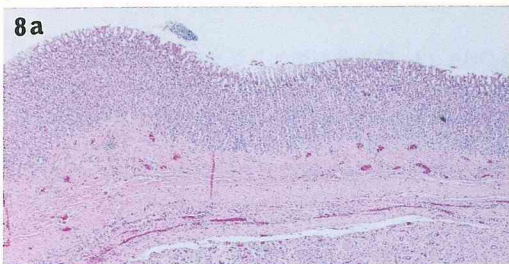
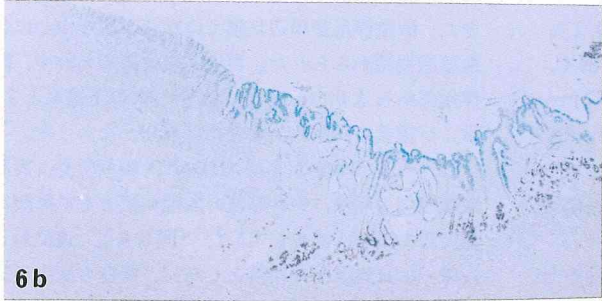
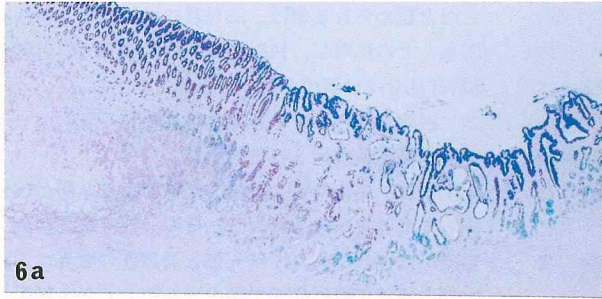
(6) レクチン染色所見: 酢酸作用部周辺の, 表層粘

図4

- c AB-PAS d HID-AB e PCS-Bowie f DBA×40 副細胞の増加した部位を拡大した。副細胞は, 大量の酸性粘液(シアロムチンおよびスルフォムチン)を含み, 腺底部まで分布している。主細胞はまったく認められない。表層粘液細胞においても表層では中性粘液, 胃小窩では酸性粘液の増加を認める。DBA は腺頸部の腫大した副細胞に結合性を示した。
g PCS-Bowie×200 副細胞増加部のさらに周辺で, 副細胞型粘液顆粒と主細胞分泌顆粒の両者を含む中間型細胞が多数認められる。

図5 潰瘍作成後14日目の所見。

- a AB-PAS b HID-AB c PCS-Bowie d DBA×16 再生上皮は DBA 陽性のシアロムチンで特徴づけられ, 深部には偽幽門腺が形成されている。周辺の副細胞数の増加は続いているが, DBA の結合性は消失し, 酸性粘液をほとんど含まない。



液細胞内の粘液の減少および副細胞型粘液の消失に平行する結合性を示した。すなわち酢酸作用部周辺において、表層粘液細胞では SBA および UEA-I の結合性の低下がみられ、副細胞では GSA II をはじめとして PNA, SBA, UEA-I の結合性低下が認められた。なお GSA-I B 4 は壁細胞染色と平行し、周辺で壁細胞への結合性が低下していた。また DBA は潰瘍周辺で胃小窩内腔に結合性がみられた。

b 潰瘍作成後7日目の所見

(1) HE 染色所見：肝臓に穿通する UIIV の潰瘍が認められ、潰瘍底は壊死に陥った組織の上を浸潤した炎症性細胞、壊死物質、粘液が覆っていた。潰瘍は下掘れ所見を示し、辺縁粘膜の捲れ込みがみられた。再生粘膜は潰瘍辺縁に僅かな伸び出しとして観察された。

(2) AB-PAS および HID-AB 染色所見：表層粘液細胞内の粘液は、潰瘍のすぐ辺縁で相変わらず減少していたが、その周辺では明らかな増加が認められた(図4a)。粘液の増加した表層粘液細胞の表層では中性粘液が増加しているのに対し、胃小窩では酸性粘液であるシアロムチンおよびスルフォムチンの増加がめだつた(図4c, 4d)。一方、副細胞内の粘液量は、表層粘液細胞よりさらに顕著に増加しており、特に腺頸部に分布する副細胞は中性粘液のみならずシアロムチン、スルフォムチンを大量に含んでいた(図4a, 4c, 4d)。遠位および後壁対称部では、3日目に減少していた表層粘液細胞内の粘液量はほぼ回復し、副細胞粘液とともに正常粘膜と同様の染色性を示した。

僅かに伸びだした再生粘膜はシアロムチンを含んでいた。

(3) PCS および PCS-Bowie 染色所見：潰瘍周辺で、副細胞数および副細胞の含有する粘液量が顕著に増加していた。すなわち、副細胞は正常では分布する

ことのない腺底部深層まで数を増しており、また個々の副細胞は、特に腺管の浅い層において大量の粘液を含み腫大していた(図4b, 4e)。AB-PAS と比較すると、酸性粘液を産生していたのは表層の副細胞で、腺底部の副細胞は本来の副細胞と同じ中性粘液を含有していた。

この副細胞が増加した部位では主細胞の分泌顆粒はまったく存在せず、主細胞が消失していた(図4b)。

なお、この副細胞の増加部の範囲は、潰瘍辺縁から0.6mm から2.0mm の範囲内でみられたが、検体により辺縁からの距離および副細胞が増加している腺管数に若干の差がみられた。

さらにその周辺(幅0.5mm 前後の範囲)を観察すると、副細胞型粘液顆粒と主細胞分泌顆粒の両者を含む細胞が、正常ではみられない密度(55~75個/10腺腔)で多数存在した(図4g)。

再生粘膜は、PCS 陰性であった。潰瘍底には PCS 陽性の副細胞型粘液が厚く付着していた。

(4) GOS 反応所見：潰瘍周辺、遠位粘膜ともに反応は見られなかった。

(5) 壁細胞染色所見：潰瘍周辺の副細胞増加部においては、壁細胞は腺頸部に存在せず、腺底部にのみ分布していた。

(6) レクチン染色所見：潰瘍周辺の増加した副細胞に GSA-II, SBA, UEA-I の結合性がみられた。PNA は腺底部に分布する副細胞に結合したが、腺頸部の腫大した副細胞には僅かに結合するのみであった。注目すべきことに、正常の副細胞にはまったく結合しない DBA が、腺頸部の腫大した副細胞に強い反応性を示したが、腺底部に分布する副細胞および副細胞増加部位の表層粘液細胞には結合を認めなかった(図4f)。

DBA の結合性でもう1つ特徴的なのは再生粘膜に

図6 潰瘍作成後24日目の所見

a AB-PAS b HID-AB c PCS-Bowie d DBA×16 再生粘膜は DBA で周囲粘膜と明瞭に区別される。腺構造は再生粘膜の中心から周辺に向かって①偽幽門腺②偽幽門腺と副細胞の中間的性格をもつ部位③副細胞の増加した部位④副細胞と主細胞の中間型細胞の見られる部位⑤正常体部粘膜の順に配列している。

図7 潰瘍作成後24日目の所見

a AB-PAS b HID-AB c DBA×16 一部の再生粘膜で、表層粘液細胞の DBA 結合性が消失しているにもかかわらず、同部の腺構造に DBA の結合する所見がみられる。

図8 潰瘍作成後224日目の所見

a HE b PCS-Bowie×10 癒痕の上に正常体部粘膜と区別できない粘膜が再生している。

対する反応であった。すなわち、胃体部の粘膜表層粘液細胞に結合せず幽門部表層粘液細胞に結合する DBA が、僅かに伸びだした再生粘膜に強く結合し、周辺部粘膜と明瞭に区別された。

7日目の所見の模式図を図9 a に示した。

c 潰瘍作成後10, 14日目の所見

(1) HE 染色所見：再生粘膜の伸びだしが進み、内腔の広い腺窩の形成が見られた。14日目には、さらにその深部に胞状形態をとる幽門腺類似の腺構造が出現した。潰瘍底の肉芽組織では、毛細血管が減少し、膠原化が進行していた。再生粘膜の伸びだしに瘢痕収縮が加わり潰瘍は縮小が進行した。

(2) AB-PAS および HID-AB 染色所見：再生上皮は中性粘液とともにシアロムチンを多く含んでおり、スルフォムチンは検出されなかった(図5 a, 5 b)。10日目に出現する内腔の広い腺窩の細胞は、多くが AB-PAS 陰性で一部に弱い反応を示した。続いて出現する幽門腺類似の胞状腺は、PAS に弱く反応するシアロムチンおよびスルフォムチンを多く含んでいた。

潰瘍近傍で数を増した副細胞の酸性度は10日目には低下し、14日目ではほとんど中性粘液のみを含んでいた(図5 a, 5 b)。

(3) PCS および PCS-Bowie 染色所見：再生上皮および10日目に出現する再生粘膜内の内腔の広い腺窩の細胞は、PCS 反応性を示さなかったが、14日目に出現する幽門腺類似の胞状腺は PCS 陽性のⅢ型粘液を産生していた。再生上皮内には主細胞型の分泌顆粒は存在しなかった(図5 c)。一方、潰瘍近傍の副細胞数増加は相変わらず続いていたが、個々の副細胞の含む粘液量は徐々に減少していた。

主細胞は副細胞増加部のさらに周辺で腺底深部に認められ、潰瘍から離れるにつれて腺底部全体に分布して正常体部粘膜に移行していた(図5 c)。7日目に副細胞数増加部の周辺でみられた副細胞と主細胞の中間型細胞は、7日目とはほぼ同じ数が認められた。

(4) GOS 反応所見：潰瘍周辺、ならびに再生粘膜に反応を認めなかった。

(5) 壁細胞染色所見：壁細胞は再生粘膜内に存在せず、潰瘍周辺の副細胞数増加部で腺底部のみに、さらにその周辺では腺腔全体に認められた。

(6) レクチン染色所見：再生上皮は、再生が進んだ10, 14日目においても全体が強い DBA 結合性を示した。また、再生上皮内に出現する幽門腺類似の胞状腺も DBA に結合した。(図5 d)。他のレクチンの結合

としては、再生上皮の表層細胞には SBA, UEA-I が結合した。また幽門腺類似の腺には PNA, GSA-II, SBA, UEA-I, が結合し GSA-I B 4 もゴルジ野に弱い結合を認めた。

潰瘍周辺の増加した副細胞のうち、腺頸部に存在する副細胞に強い結合性を示した DBA は反応を減じ、14日目には結合性がほぼ消失した。他のレクチンの副細胞および周辺粘膜への結合性は正常粘膜と同様であった。

潰瘍周辺の数を増した副細胞は DBA 結合性および酸性度を失い正常粘膜の副細胞と同じ組織化学的性状に復した。

再生粘膜に出現する胞状腺は、PCS および DBA 陽性でスルフォムチンとシアロムチンを含んでおり、形態ばかりでなく組織化学的反応も正常幽門腺と同一であり偽幽門腺であった。一方、再生上皮の表層粘液細胞は DBA 陽性のシアロムチンを産生し、他のレクチン結合性ともあわせ幽門部表層粘液細胞と類似していた。

14日目の所見の模式図を図9 b に示した。

d 潰瘍作成後21, 28日目の所見

(1) HE 染色所見：潰瘍底は膠原化が進行して瘢痕化していた。この時期には、再生上皮が潰瘍を覆った標本と open ulcer が残る標本が見られた。以下に潰瘍が再生上皮で覆われた例について記載する。

閉鎖した潰瘍の再生粘膜には、広い内腔を持つ腺窩とその深部の偽幽門腺がみられた。再生粘膜の周辺粘膜には管状腺構造がみられたが、偽幽門腺との移行部に胞状腺と管状腺の混在が認められた。

(2) AB-PAS および HID-AB 染色所見：再生上皮の表層粘液細胞はシアロムチンを含み、偽幽門腺はシアロムチンとスルフォムチンを含んでいた。周辺の胞状腺と管状腺の混在部には、酸性粘液を含む腺細胞と中性粘液のみを含む腺細胞の両者が混在してみられた。さらにその周囲の管状腺構造には中性粘液のみが認められた(図6 a, 6 b)。

(3) PCS および PCS-Bowie 染色所見：偽幽門腺、潰瘍周囲の管状腺(腺底部まで分布する副細胞)、および両者の間に存在する胞状腺と管状腺の混在部の全てが PCS 陽性を示した。主細胞は、腺底部まで増加した副細胞の領域のさらに周囲で初めて出現した(図6 c)。この部位で副細胞と主細胞の中間型細胞が正常粘膜よりは多いが、28日目までより数を減じて(20~35個/10腺腔)認められた。

胃潰瘍治癒過程の粘液組織化学

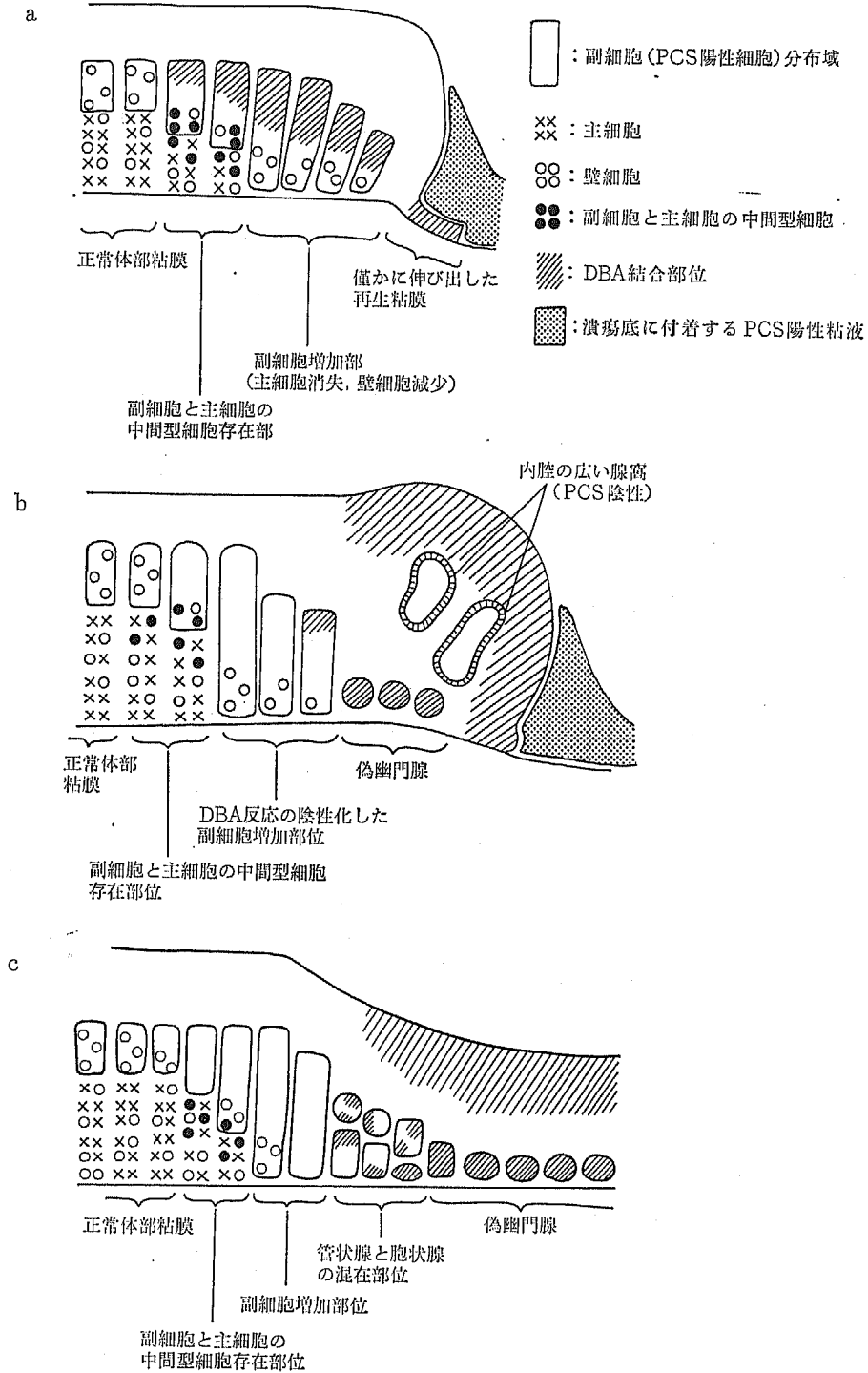


図9 ラット酢酸潰瘍治癒過程の模式図

a 潰瘍作成後7日目 b 潰瘍作成後14日目 c 潰瘍作成後28日目(潰瘍閉鎖例)

(4) GOS 反応所見：再生上皮の一部にごく僅かな反応を示すのみであった。

(5) 壁細胞染色所見：壁細胞は、主細胞の認められる領域にほぼ一致してみられ、再生上皮内には存在しなかった。

(6) レクチン染色所見：この時期でも DBA は再生粘膜の表層粘液細胞および偽幽門腺に結合性を示した。周辺の管状腺管内に副細胞が増加した部の DBA 結合性は完全に消失していた。胞状腺と管状腺の混在部では、DBA 陽性細胞と陰性細胞が入り交じって存在した (図 6 d)。他のレクチンの結合性は 10, 14 日目と同様の所見であった。

なお一部の標本 (17 例中 2 例) で、粘膜下層以下が瘢痕化しており明らかに再生粘膜と思われる部位において、表層粘液細胞の DBA 結合性が消失しているにもかかわらず少数の偽幽門腺に DBA が結合する所見がみられた (図 7 a, 7 b, 7 c)。

PCS 陽性の腺構造についてまとめると、再生粘膜の中心から周辺に向かって①胞状腺で DBA 陽性の酸性粘液をもつ偽幽門腺②胞状腺と管状腺が混在し、産生粘液の酸性度および DBA 結合性から偽幽門腺と副細胞の中間的性格を持つ部位③管状腺で DBA の結合性が見られない中性粘液を持つ副細胞が腺頸部から腺底部まで増加した部位④副細胞と主細胞の中間型細胞がみられ主細胞が出現する部位⑤副細胞、主細胞および壁細胞がみられる本来の体部粘膜の順番に配列していた。

28 日目の所見の模式図を図 9 c に示した。

e 潰瘍作成後 56, 168, 224 日目の所見

(1) HE 染色所見：潰瘍部の粘膜下層以下は高度に線維化した瘢痕組織から形成されていた。粘膜筋板を介せず、瘢痕の上に直接正常胃体部粘膜と形態的に区別できない粘膜が再生した標本 (治療例) (図 8 a) と、瘢痕の上に広い粘膜欠損があり、明らかに再発したと思われる標本 (再発例) とがみられた。再発例の再生上皮部には偽幽門腺とその周囲の胞状腺と管状腺の混在がみられ、さらにその周辺で副細胞数の増加が観察された。

(2) AB-PAS および HID-AB 染色所見：治療例では粘膜内の粘液の量、分布および酸性度は正常胃体部粘膜と同じであった。

再発例では、再生上皮の表層粘液細胞はシアロムチンを含み、偽幽門腺がシアロムチンとスルフォムチンを含んでいた。21, 28 日目と同じく周辺へ行くに従い

粘液腺細胞は酸性度を失い中性粘液のみを含むようになった。

(3) PCS および PCS-Bowie 染色所見：治療例では正常と区別がつかない副細胞と主細胞が観察された (図 8 b)。

再発例での副細胞型粘液産生細胞の構造は、基本的に 28 日以内にみられたものと同じであった。再生粘膜が僅かなものでは、周辺副細胞増加部で個々の副細胞の含有粘液量に増加がみられた。

(4) GOS 反応所見：治療例、再発例ともに反応はほとんど見られなかった。

(5) 壁細胞染色所見：治療例では壁細胞の再生も完全であった。再発例では主細胞の出現する部位に一致して壁細胞がみられた。

(6) レクチン染色所見：治療例の胃体部粘膜には DBA を含め全てのレクチンは正常と同じ結合性を示した。

再発例の再生上皮の表層粘液細胞および偽幽門腺は DBA に対して結合性を認め、他のレクチンを含め 28 日以内の所見と同じであった。

産生する粘液の組織化学的所見からも、また、主細胞や壁細胞の分布を含め形態的にも完全な胃体部粘膜が再生した検体が認められた。なお、完全治療例と判定した 22 例中 3 例は、念のためブロックを深切りして標本を作成し、体部粘膜が完全に再生していることを確認した。

IV 考 案

消化管の粘膜にはその全長にわたって粘液細胞が分布し、多量の粘液が産生されているが、粘液細胞とその産生する粘液の役割は必ずしも明らかになっているとはいえない。今回の研究では、種々の組織化学的染色を行って、ラット胃体部に作成した酢酸潰瘍の修復過程を観察した結果、粘液細胞の動態およびその産生する粘液が潰瘍の修復に演じている役割の一端が明らかにされた。

Wistar 系ラットの胃粘膜で産生される粘液を観察するために用いた染色法のなかで、AB-PAS, HID-AB, PCS 染色により得られた正常粘膜での結果は従来¹⁵⁾の報告に一致した。PCS-Bowie 重染色は、副細胞と主細胞の相互関係の観察に特に効果的であり、従来電顕のみで確認されていた副細胞と主細胞の中間型細胞²¹⁾²²⁾が PCS-Bowie 重染色によりはじめて光顕レベルで可視化された¹⁶⁾だけでなく、その数の計測

が可能となり、副細胞の分化の検討に応用できた。多くの脊椎動物で表層粘液細胞を特に強く染色するGOS反応は、Wistar系ラットではきわめて弱い反応が観察されただけであった。検討した糖鎖結合特異性を異にするレクチンの中で、DBAは噴門部粘膜および幽門部粘膜に選択的な結合を示した²³⁾。ヒトを含む多くの動物で、体部粘膜と幽門部粘膜における粘液の相違はこれまでまったく知られていない。特に両者の表層粘液細胞が異なった粘液を産生しているとの報告は著者が知る範囲では犬²⁴⁾をのぞいてみられない。PCSは、表層粘液細胞と腺上皮の粘液細胞が異なった粘液を産生する¹⁵⁾という、いわば粘膜内の層別の分化を明らかにしたが、DBAは、胃という単一の臓器における体部粘膜と幽門部粘膜の部位別の機能分化を明らかにした。このようなそれぞれの粘液細胞に選択的な結合性を示す染色法や、抗壁細胞抗体やBowie染色変法による粘膜構成細胞の観察は、胃粘膜における粘液、あるいは粘液細胞の役割の検討のみならず、再生上皮の分化、成熟、さらには胃癌細胞の表現型を論ずる上で役立つことが期待される。

今回のラット酢酸潰瘍の検討で、早期には防御因子である粘液の産生細胞数と、攻撃因子をにらむ主細胞および壁細胞の数のバランスが大きく前者に傾き、ついだ潰瘍辺縁から幽門粘膜型の粘液を持つ粘膜の再生が始まり、最後に再生粘膜の体部粘膜化が完了する修復過程が明らかにされた。

実験潰瘍作成直後の潰瘍周辺で粘膜内粘液の減少が指摘されているが⁹⁾¹⁰⁾、今回潰瘍作成後3日目に酢酸作用部周辺粘膜で見られたように、表層粘液細胞内粘液の減少に比べ副細胞型粘液と主細胞顆粒の減少がより著しいことが明確になった。酢酸潰瘍は、蛋白凝固作用を持つ酢酸を漿膜面より作用させるという方法を取り、5日目までは潰瘍形成期とされる²⁵⁾。したがって、この段階での粘液および主細胞顆粒の減少は胃粘膜の能動的な反応ではなく、酢酸による物理化学的な損傷部位の隣接粘膜における機能障害と考えられる。小林ら²⁶⁾は、急性潰瘍モデルである水浸拘束負荷ラットにおいて、胃体部粘膜全体の副細胞性粘液および主細胞性顆粒の高度減少を観察しており、局所病変とびまん性病変の差はあるが、この副細胞と主細胞の分泌顆粒消失所見は障害を受けた胃粘膜の早期の反応として共通のものと思われる。

急性期を経過した7日目には治癒過程の粘膜の本来の反応ともいえる所見が見られる。すなわち、潰瘍周

辺粘膜における各細胞の増減が明瞭となり、潰瘍保護被覆因子である粘液を産生する副細胞が増加し、その一方で、攻撃因子であるペプシンや塩酸を産生する主細胞と壁細胞が消失あるいは減少して、潰瘍治癒に向かっての良好な環境が作られていた²⁷⁾²⁸⁾。さて、PCSにより同定される副細胞は、増殖細胞帯に続く腺頸部の分裂増殖能力を持つ細胞で、腺底部に向かって移動成熟し主細胞に分化するが、今回の実験により、潰瘍周辺部で増加した副細胞には少なくとも2種類存在することが明らかになった、すなわち、腺頸部に存在しDBA反応性で酸性粘液を作る副細胞と、正常の副細胞と同様な反応を示し腺の深部に分布する副細胞で、その染色性から、前者は潰瘍形成後新生した副細胞、後者は既存の副細胞が新生した副細胞により腺底部へ押しやられたものと考えられる。また副細胞と主細胞の中間型細胞の増加は、同部位で主細胞が消失していることから副細胞の分裂能亢進と主細胞への分化の停止を示していると考えられる。さらに、主細胞は200±100日の寿命を持つ²⁹⁾とされ、また、壊死に陥った主細胞が腺腔内に観察されないことや、腺管構造の破壊像が見られないことなどから、この増加した中間型細胞には幼若化によって副細胞型粘液を産生するに至った主細胞が混在している可能性が考えられる。Helpapら³⁰⁾はラットの実験胃潰瘍の辺縁で、主細胞の幼若化の可能性を支持する少数の分裂能を有する主細胞を観察している。

胃体部の損傷粘膜の近傍でみられる腺頸部の細胞分裂亢進を、HattoriとFujita²⁹⁾は³H thymidineを用いたオートラジオグラフィにより検討し、腺細胞の寿命が幽門腺の寿命に類似の20日前後に短縮することから、再生粘膜内の腺構造と同じ偽幽門腺化と名づけ、さらにこの反応を不可逆性であると推論した。しかし、10～14日目では、増加した粘液細胞が縁取る管状腺の構造は保たれており、本来の副細胞と同様なDBA結合性を欠く中性粘液を再び産生しているので、あくまでも副細胞に特有な可逆的反応と捕らえるべきであろう。

再生粘膜に目を移すと、7日目に出現したDBA結合性の再生上皮内に、10～14日目には本来の幽門粘膜と同様なDBA結合性を示す表層粘液細胞と偽幽門腺の分化が生じた。21～28日には幽門粘膜様の再生粘膜により被覆が完了する例が見られたが、再生粘膜内に主細胞、壁細胞は見られず、体部粘膜の完全な再生には168～224日を要した。Blom³¹⁾は、ラット焼灼潰瘍の

治癒過程を電顕的に観察し、再生粘膜内の胃固有腺の再生の完成には8~9カ月を要するとし、著者の観察結果はほぼこれに一致した。28日目の段階で見られる再生粘膜の中心から周辺への粘膜構造の連続的な変化は、体部粘膜の再生の過程を示していると考えられる。すなわち、体部粘膜の再生は、まず、偽幽門腺を有し、DBA に全層が結合する類幽門粘膜が出現する。つぎに被蓋上皮と腺上皮がともにDBA 結合性を次第に失いながら腺は管状腺となり、その腺上皮は副細胞に分化する。さらに最終的に主細胞や壁細胞が出現するという多数の段階を踏んで完成することが明らかになった。ヒトの再生粘膜表層の走査電顕による検討³²⁾で、表層粘液細胞の微細構造が幽門粘膜類似であることが報告されており、今回の著者の検討での再生した表層粘液細胞がDBA 結合性を示す所見に対応している。ヒトとラットで表層粘液細胞にも共通の幽門粘膜化が生じている点は興味深い。再生粘膜のDBA 結合性の消失を同一の腺窩で観察した場合、腺細胞より表層粘液細胞が先行するのは、表層粘液細胞の細胞回転が2~4日²⁹⁾と幽門腺のそれに比較して短いことによると思われる。

再生粘膜の一時的な幽門粘膜化の意義は現時点では明らかでない。しかし、粘液の産生が遺伝子レベルで制御されていることを考えると、産生粘液の性状の変化はたんに粘液産生能のみでなく、いまだ充分解明されたとはいえない表層粘液細胞の持つ他の機能、たとえば粘液層内 pH 勾配を形成する重碳酸分泌³³⁾³⁴⁾、細胞表面に疎水層を形成するリン脂質の分泌³⁵⁾などの変化も伴っていると予想され、粘膜防御機構の変化に深くかかわった現象と考えられる。DBA 結合性の消失に伴う細胞の微細構造の変化は今後の重要な検討課題である。

実験潰瘍学の立場からは、DBA 陽性の体部再生粘膜は粘液組織化学的には未成熟な状態と判定でき、Wistar 系雄性ラットのDBA 結合性はきわめて有用な再生粘膜の成熟指標となりうると思われた²³⁾。DBA 結合性の消失する時期、すなわち再生粘膜の産生粘液の性状が幽門型から胃体部型に変化する時期は標本間に差があり、再生粘膜の成熟度に差を認めた。この成熟度の違いが潰瘍再発の有無に影響し、168日、224日目に完全治癒例と再発例の両者が観察された一因と考えられる。粘膜再生は全例、胃壁全層にわたる瘢痕の上で行われており、従来の検討に示されているように³⁶⁾³⁷⁾、血流不良の程度が再生粘膜の成熟に影響した

ものと推測された。今後、この再発過程を粘液組織化学的立場からさらに検討する必要がある。

産生される粘液の糖鎖構造が大きく異なる表層粘液細胞と噴門腺—副細胞—幽門腺という2種類の粘液産生系の機能分担についての研究は少ない。副細胞の産生するⅢ型粘液の性状に対する生化学的検討では、糖蛋白質内のN-acetylglucosamine 残基がPCSにおけるCon Aの結合性に関与している可能性³⁸⁾やⅢ型粘液の分子量が従来言われている粘液糖蛋白質の分子量よりかなり小さいと考えられる³⁹⁾などの報告がみられるが、現時点ではその生化学的性状については依然未解明である。

太田ら⁴⁰⁾はヒト胃粘膜の表層を覆う粘液が、表層粘液細胞型の粘液と副細胞型粘液による10数層に及ぶ層構造をしていることを認め、表層粘液層の構成に両者の粘液が不可欠であることを証明しており、また、勝山⁴¹⁾は、副細胞系の粘液細胞が粘膜表層が損傷を受けた際の二次的な防御を担っている可能性を示唆した。今回、潰瘍作製7日目にみられた副細胞数および粘液量の著しい増加と、潰瘍底の副細胞型粘液による被覆は、副細胞型の粘液が慢性潰瘍の胃粘膜の修復においても不可欠な存在であることを示している。今後、固定および標本処理の困難性から組織化学的にはほとんど検討されていない表層粘液層と粘膜内粘液の同時観察を行うことによって粘液産生細胞の機能分担はさらに明らかになろう。

V 結 論

- 1 粘液組織化学的方法を用いて胃体部に作成したラット酢酸潰瘍の治癒過程を検討した。
- 2 ラット酢酸潰瘍は潰瘍作成28日目まで経時的に縮小したが、56日目に再発が認められた。10% (168日目) から18% (224日目) の検体では完全治癒がみられた。
- 3 DBA はWistar系ラットの幽門型粘膜の指標となった。
- 4 潰瘍作成3日目には潰瘍周辺の副細胞型粘液および主細胞顆粒が消失した。壁細胞は保たれていた。
- 5 潰瘍作成7日目には潰瘍周辺の副細胞は腺底部に達するまで数を増し、大量のDBA結合性の酸性粘液を産生していた。同部では、主細胞が消失しており壁細胞数の減少が認められた。さらにその周辺で副細胞と主細胞の中間型細胞を多数認め、副細胞の分裂能亢進と主細胞への分化の停止、さらに主細胞の幼若化

を示すと考えられた。また潰瘍底には副細胞型粘液の付着が認められた。

6 胃体部再生粘膜は、表層粘液細胞、腺構造とも幽門粘膜の性格を示した。

7 固有胃腺の再生は再生粘膜内に偽幽門腺が生じ、それが副細胞に分化し、さらに主細胞や壁細胞に分化するという多数の段階を踏んで完成した。

8 副細胞型粘液は胃粘膜損傷時の胃粘膜保護因子として重要である。以上より、潰瘍治癒過程における粘液産生細胞を中心とした細胞動態と、粘液の果たす役割を明らかにした。

VI 謝 辞

本論文の要旨は、第16回日本実験潰瘍研究会(1988年12月, 京都), 第18回創傷治癒研究会(1988年12月,

東京), 第75回日本消化器病学会総会(1989年3月, 神奈川), 第78回日本病理学会総会(1989年3月, 京都), 第31回日本消化器病学会大会(1989年10月, 旭川)において発表した。

稿を終えるに当たり、本研究をまとめるに際し懇切丁寧なご指導ならびに本論文の御校閲を賜りました信州大学医学部第1外科学教室幕内雅敏教授に深謝申し上げます。また本研究の全てにわたり直接ご指導いただきました信州大学医学部第1外科学教室市川英幸講師ならびに信州大学医学部臨床検査医学教室勝山努助教授に心より感謝の意を表します。組織標本作製に協力して下さいました山上修主任技官をはじめとする信州大学医学部附属病院中央検査部病理の皆様にも感謝致します。

文 献

- 1) Hollander, F. : The two component mucus barrier-Its activity in protecting the gastroduodenal mucosa against peptic ulceration-. Arch Intern Med, 93 : 107-120, 1954
- 2) Davenport, H. W. : Salicylate damage to the gastric mucosal barrier. N Engl J Med, 276 : 1307-1312, 1967
- 3) Menguy, R. : Gastric mucus and the gastric mucous barrier ; A review. Am J Surg, 117 : 806-812, 1969
- 4) 高木敬次郎, 阿部康夫 : 実験潰瘍の治癒に関する研究—酢酸潰瘍の治癒にともなう胃組織構成成分の変化—。日薬理誌, 68 : 504-513, 1972
- 5) Allen, A. : Structure of gastrointestinal mucus glycoproteins and the viscous and gel-forming properties of mucus. Br Med Bull, 34 : 28-33, 1978
- 6) Carlstedt, I., Sheehan, J. K., Corfield, P. and Gallagher, J. T. : Mucus glycoproteins—a gel of a problem-. Essays Biochem, 20 : 40-76, 1985
- 7) Ichikawa, H., Karibe, N., Koike, H. and Hayashi, S. : The relationship between acid and mucosubstances in gastric juice. In : Kasuya, Y., Tsuchiya, M., Nagao, F. and Matsuo, Y. (eds.), Gastrointestinal function, regulation and disturbances, pp. 42-54, Excerpta Medica, Amsterdam, 1983
- 8) Katsuyama, T., Ono, K., Nakayama, J. and Kanai, M. : Recent advances in mucosubstance histochemistry. In : Keiichi, K. (ed.), Gastric mucus and mucus secreting cells, pp. 3-18, Excerpta Medica, Amsterdam, 1985
- 9) 川崎久徳 : 実験的慢性胃潰瘍の組織化学的研究 (Clamping 及び Clamping-Cortisone群). 日消誌, 67 : 837-855, 1970
- 10) 香宗我部滋 : 漿膜焼灼胃潰瘍の組織化学的研究—胃粘膜ムコ物質の同定と局在一—. 東医大誌, 40 : 595-602, 1982
- 11) Okabe, S., James, L. A. and Carl, J. P. : A method for experimental, penetrating gastric and duodenal ulcers in rats—Observations on normal healing—. Digestive Disease, 16 : 277-284, 1971
- 12) Spicer, S. S., Horn, R. G. and Leppi, T. J. : Histochemistry of connective tissue mucopolysaccharides. In : Wagner, B. M. and Smith, D. E. (eds.), The connective tissue, pp. 251-303, Williams and Wilkins, Baltimore, 1967
- 13) Spicer, S. S. : Diamine method for differentiating mucosubstances histochemically. J Histochem Cytochem, 13 : 211-234, 1965

- 14) Roberts, G.P. and Gupta, S.K. : Use of galactose oxidase in the histochemical examination of mucous secreting cells. *Nature*, 207 : 425-426, 1965
- 15) Katsuyama, T. and Spicer, S.S. : Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the Concanavalin A-horseradish peroxidase method. *J Histochem Cytochem*, 26 : 233-250, 1978
- 16) Hayama, M., Katsuyama, T., Nakayama, J., Akamatsu, T. and Honda, T. : A combined stain for identifying epithelial cells of the gastric mucosa. *Stain Technol*, 62 : 35-40, 1987
- 17) Bowie, D.J. : A method for staining the pepsinogen granules in gastric glands. *Anat Rec*, 64 : 357-367, 1936
- 18) Stoward, P.J., Spicer, S.S. and Miller, R.L. : Histochemical reactivity of peanut lectin-horseradish peroxidase conjugate. *J Histochem Cytochem*, 28 : 979-990, 1980
- 19) 勝山 敦, 小野謙三 : ムコ物質の組織化学. 日本病理学会 (編), 病理技術マニュアル4, 病理組織化学とその技術, pp.369-398, 医歯薬出版, 東京, 1986
- 20) Tsutsumi, Y. and Hara, M. : Application of parietal cell autoantibody to histopathological studies. *Acta Pathol Jpn*, 35 : 823-829, 1985
- 21) Kataoka, K. and Sakano, Y. : Panoramic observation of the mouse gastric mucosa by superwide-field electron microscopy. *Arch Histol Jpn*, 47 : 209-221, 1984
- 22) Sato, A. and Spicer, S.S. : Ultrastructural cytochemistry of complex carbohydrates of gastric epithelium in the guinea pig. *Am J Anat*, 159 : 307-329, 1980
- 23) 杉山 敦, 市川英幸, 小林忠二郎, 橋倉泰彦, 勝山 敦 : 実験的胃潰瘍再生上皮の粘液組織化学的検討—再生上皮の幽門粘膜化について—. *最新医学*, 44 : 1991-1993, 1989
- 24) Spicer, S.S. and Sun, D.C.H. : Histochemical and morphologic changes in gastric mucosa of dogs on ulcerogenic regimen. *Am J Pathol*, 56 : 129-151, 1969
- 25) 岡部 進, 田中宏典 : 抗潰瘍薬開発のための実験潰瘍モデルの意義. 三好秋馬, 城所 仵, 長尾房大, 松尾裕, 岡部 進 (編), 実験潰瘍, 第1版, pp.3-15, 医学図書出版, 東京, 1987
- 26) 小林忠二郎, 市川秀幸, 杉山 敦 : 迷切術のラット胃粘液に及ぼす影響. 胃分泌研究会誌, 21 : 61-64, 1989
- 27) 杉山 敦, 市川英幸, 小林忠二郎, 橋倉泰彦, 勝山 敦 : ラット酢酸潰瘍治癒過程の粘液組織化学的検討—副細胞性粘液の動態を中心にして—. *Prog Med*, 9 : 1067-1071, 1989
- 28) Sugiyama, A., Ichikawa, H., Kobayasi, C., Hasikura, Y. and Katsuyama, T. : Physiological significance of mucous neck cell-type mucins in the healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *Scand J Gastroenterol [Suppl, 162]*, 24 : 142-145, 1989
- 29) Hattori, T. and Fujita, S. : Tritiated thymidine autoradiographic study on cellular migration in the gastric gland of the golden hamster. *Cell Tissue Res*, 172 : 171-184, 1976
- 30) Helpap, B., Hattori, T. and Gedigk, P. : Repair of gastric ulcer—A cell kinetic study—. *Virchows Arch [A]*, 392 : 159-170, 1981
- 31) Blom, H. : The structure of normal and regenerating rat oxyntic mucosa. *Scand J Gastroenterol [Suppl, 110]*, 20 : 73-80, 1985
- 32) 船津 隆 : 健常胃粘膜および胃潰瘍再生粘膜の走査電子顕微鏡学的検討. *日消誌*, 80 : 1-8, 1983
- 33) Williams, S.E. and Turnberg, L.A. : Demonstration of a pH gradient across mucus adherent to rabbit gastric mucosa—evidence for a 'mucus-bicarbonate' barrier—. *Gut*, 22 : 94-96, 1981
- 34) Gunnar, F. and Garner, A. : Gastroduodenal HCO₃⁻ transport—characteristics and proposed role in acidity regulation and mucosal protection—. *Am J physiol*, 242 : 183-193, 1982
- 35) Kao, Y.J. and Lichtenberger, L.M. : Localization of phospholipid-rich zones in rat gastric mucosa—possible origin of a protective hydrophobic luminal lining—. *J Histochem Cytochem*, 35 : 1285-1298, 1987
- 36) 北島政樹, 相馬 智 : 微細血管構築像からみた急性潰瘍と慢性潰瘍の発生機序についての一考察. *Gastroenterol End*, 26 : 1867-1871, 1984
- 37) 中村紀夫, 坂口友次朗, 長洲堯雄, 田村茂樹, 小山 厚, 原 伸一, 小野俊孝, 永田 徹, 山本英明, 青木

- 祐介, 長尾房大: 潰瘍治癒に及ぼす血流と胃壁微細血管構築. *Prog Med*, 4 : 819-830, 1984
- 38) Hotta, K., Goso, K. and Kato, Y. : Human gastric glycoproteins corresponding to paradoxical Concanavalin A staining. *Histochemistry*, 76 : 107-112, 1982
- 39) 石田康夫, 高橋愛樹, 趙 建勲, 長谷川美奈子, 市川ひろみ, 三倉理恵子, 鈴木快輔, 家泉桂一, 鈴木孝夫, 石浦章一, 杉田秀夫: 胃粘膜内の防御因子, 長町幸雄 (編), *Cyto-protection and biology*, vol.6, pp. 41-48, 蟹書房, 東京, 1989
- 40) 太田浩良, 勝山 努, 金井正光, 松沢賢治, 杉山 敦: 胃粘膜表層粘液層の組織化学的検討, *日消誌*, 86 : 1994, 1989
- 41) 勝山 努: 消化器の系統発生. 藤田哲也, 川井啓市 (編), *消化器の発生と分化*, pp. 1-21, 大阪書籍, 大阪, 1988

(2. 2. 8 受稿)
