

原 著

胃における粘液蛋白の生成ならびに分泌に関する研究

第1編 胃におけるアルブミンの動態に関する生化学的研究

小宮山 清洋

信州大学医学部第二外科学教室

(指導: 降旗力男教授)

STUDIES ON PRODUCTION AND EXCRETION
OF GASTRIC MUCOUS PROTEIN

PART I. STUDIES OF BIOCHEMICAL PROPERTIES
OF SERUM ALBUMIN IN THE STOMACH

Kiyohiro KOMIYAMA

Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Rikio FURIHATA)

KOMIYAMA, K. *Studies on production and excretion of gastric protein. Part I. Studies of biochemical properties of serum albumin in the stomach.* Shinshu Med. J., 29 : 279-290, 1981

Biochemical properties of serum albumin taken up from blood into the stomach were studied in rat and human being using ^{125}I -labeled and ^{131}I -labeled human albumin, respectively. The following results were obtained.

(1) After intravenous injection of ^{125}I -human albumin to rats, the radioactivities increased and reached a maximum level in the stomach wall and gastric content at 4 hours.

A comparative study by the administration of $\text{Na-}^{125}\text{I}$ to rats revealed that accumulation of the radioactivities in the stomach in the above experiment was attributed to the albumin, not to iodine.

(2) Radioactivities of homogenized stomach wall and of gastric juice were counted at 4 hours after administration of ^{125}I -albumin. It was revealed that 67.6% and 76.3% of total activities of respective specimens were counted in protein fraction.

(3) Electrophoresis of the concentrated gastric juice revealed that a major protein of the gastric juice was very similar to the serum albumin. The albumin fraction showed 70.7 to 88.1% of the total activity of protein fraction of the gastric juice.

(4) It was found that the ^{125}I -bounded protein present in the gastric juice of rat after administration of ^{125}I -human albumin reacted with goat anti-human serum albumin serum.

(5) The radioactivities of gastric juice excreted for 45 minutes in rat and for 60 minutes in human were counted at 4 hours after administration of the labeled albumin and calculated to be 4.1 to 5.4% and 1.4 to 2.6% of the total radioactivities administered, respectively.

(6) The ratios of the radioactivities in the contents of digestive organs were 60.6 to 87.7%

in the stomach and 2.0 to 10.5% in the large intestine during the experiment period. Therefore, it could be speculated that a major protein excreted into the gastric lumen is absorbed in the small intestine.

From the above results it was concluded that a part of ^{125}I -human albumin injected intravenously to rats was taken up from blood into the stomach wall and excreted into the gastric lumen being preserved the properties of protein similar to albumin.

(Received for publication ; September 11, 1980)

Key words ; 胃粘液 (gastric mucus)

^{125}I 標識ヒトアルブミン (^{125}I -labeled human albumin)

電気泳動 (electrophoresis)

免疫沈降反応 (immunoprecipitin reaction)

ゲル濾過 (gel filtration)

I 緒 言

胃液分泌に関しては、従来、酸およびペプシンなどを中心として多くの研究があるが、胃液蛋白、とくに胃液成分としての蛋白に関する研究は、その構成の複雑さや定量的測定法の困難さにより、まだ一定の見解はみられない。

胃液蛋白の研究としては、Martin¹⁾、Meyer ら²⁾ Glass と Boyd³⁾ の歴史的な報告があり、本邦では、和田らの一連の業績がある⁴⁻⁹⁾。これらの研究者らは、窒素定量による蛋白量の測定から、さらに胃液蛋白の構成の追跡へと進み、その生理的意義と種々の疾患時における組成の変動に注目し、診断的意義を解明しようとした。一方、血清蛋白の胃内容への出現については、おもに蛋白漏出性胃腸症の研究⁹⁻¹⁶⁾、ならびにアルブミン代謝の研究¹⁷⁻²⁵⁾などの立場から追求されて来た。蛋白漏出性胃腸症の研究では、その代表的疾患である Ménétrier 病における低蛋白血症の原因は、胃内腔への多量の血清アルブミンの漏失であることが、胃液の電気泳動法および放射性同位元素を用いた研究⁹⁻¹⁵⁾などにより明らかにされた。

正常胃におけるアルブミン代謝の研究では Märki と Wuhrman¹⁶⁾ が、アルブミンの肝腸循環という概念を提唱して以来、Wetterfors¹⁷⁻¹⁹⁾、Glenert ら²⁰⁾、Armstrong ら²¹⁾、Campbell ら²²⁾はアルブミンの異化の場として胃腸を重視している。しかしながら胃において異化されたアルブミンの動態ならびに役割については、現在のところ不明な点が多い。胃粘液について、粘液蛋白は粘膜の保護作用を有し、一部の蛋白漏出性胃腸症では、粘液蛋白の分泌亢進がその病因とな

っていることが推測されている²⁶⁾⁻³⁰⁾。これらの一連の研究から、消化管の中でも胃は、アルブミンの代謝に重要な役割をなしていることが推測されるので、著者は、血中アルブミンと胃液蛋白との関連を解明する目的で本実験を行った。

II 対象および方法

動物実験においては、Wistar 系体重 200~250 g の雄成熟ラットを用いた。また臨床実験においては、健康成人 3 名を対象とした。

A 実験成績に影響を与えると考えられる因子についての検討

1 甲状腺に対する前処置

ラットを実験開始 1 週間前より、200mg/l のヨードカリ溶液で飼育した前処置群 5 匹と、ヨードカリを全く含まない飲料水で飼育した非処置群 5 匹とに分け、これに 20 $\mu\text{Ci/ml}$ の放射能を含む ^{125}I 標識ヨウ化ナトリウム (以下 Na- ^{125}I) を 0.5ml (10 μCi) 静注した。Na- ^{125}I 静注後、24 時間ごとに 1 匹ずつ採血後屠殺し、放射能の血中減衰ならびに血清 1ml 中の放射能に対する蛋白結合ヨードの放射能比を計測した。血中蛋白結合ヨードの放射能 (PB- ^{125}I) の測定には、血清 1ml を 60% 過塩素酸で沈澱せしめ、沈澱を 3 回洗浄した後、これを Auto-gamma Scintillation Spectrometer, Well type 5110 (Packard) で測定した。

2 各消化管の血液含有量の測定

前述と同様にヨードカリで前処置したラット 2 匹を用い、2 $\mu\text{Ci/ml}$ の放射能を含む ^{125}I - 標識ヒトアルブミン (以下 ^{125}I - アルブミン) を 0.5ml (1 μCi) 静注し、投与した ^{125}I - アルブミンが血液中に均等に希釈

され、しかもまだ細胞内とりこみが始まっていないと考えられる投与後2~3分で、エーテル麻酔下に心穿刺を行い、3ml採血後、唾液腺、胃、小腸、盲腸および大腸をそれぞれ分離採取した。各消化管と全血1mlの放射能をAuto-gamma Scintillation Spectrometer, Well type 5110 (Packard) で測定し、各消化管の放射能を全血1mlの放射能で除したものを、その臓器の3ml脱血後の血液含有量(ml/g)とした。

以下の実験における各臓器の放射能の実測値は、臓器1gあたりの含有血液中の放射能値をもって補正した。

B 胃におけるアルブミンの動態

1 動物実験

a ^{125}I -アルブミンの血中減衰ならびに消化管への集積

前回と同様の方法で、あらかじめ甲状腺をヨードカリで前処置したラットを2群に分け、第1群は15匹とし、第2群は6匹とした。第1群には ^{125}I -アルブミンを、第2群には $\text{Na-}^{125}\text{I}$ を、それぞれ20 $\mu\text{Ci/ml}$ の溶液として0.5ml(10 μCi)静注した。静注後、経時的に1匹ずつ採血した後、屠殺し、放射能の血中減衰を測定するとともに、唾液腺、各消化管壁および消化管内容における放射能を測定した。

消化管壁と内容の分離採取法は、まず、採取した消化管を開き、吸水性和紙で消化管壁をていねいにぬぐうようにして内容を採取した。

^{125}I -アルブミン投与群では、各消化管壁における放射能を測定したのち、胃壁を凍結し、生理的食塩で適宜希釈しつつホモジナイズし、遠沈分離後、上清に60%過塩素酸を加えて沈澱部分を蛋白分画、上清を非蛋白分画とし、各分画の放射能を測定した。

b 胃液中に出現する ^{125}I 結合蛋白の検討

あらかじめ甲状腺をヨードカリで前処置したラット3匹を使用し、50 $\mu\text{Ci/ml}$ の放射能を含む ^{125}I -アルブミン溶液を2ml(100 μCi)静注後、3.5時間で、ラットをエーテル麻酔下で開腹し、胃管を経口的に胃内へ挿入したのち、幽門輪を結紮した。次いで閉腹し、防腐剤としてチオメルサル(チメロサル)を0.1%、蛋白分解阻止剤としてアポロチニン(トラジロール)を100単位/mlの割合に加えた等張のリン酸緩衝液(pH7.0, イオン強度0.2)³¹⁾2mlで胃内容を10分間静かに洗浄しつつ胃液を採取した。この操作を3回、操作に要する時間も含めて合計45分間行った。

採取した胃液の全放射能を測定し、投与した ^{125}I -アルブミンに対する45分間の胃内排出率を求めたのち、透析用セロファンチューブ(Visking社製)を使用し、Carbowax 6,000³¹⁾で胃液を約6時間、ゼラチン状になるまで濃縮した。濃縮後、セロファンチューブ内のものと、チューブ外のものに分け、それぞれ別個に放射能を測定した。

また、胃液中の蛋白組成を検索するために、濃縮した胃液とラット血清を同時にセルロースアセテート膜(Cellogel)で電気泳動した。泳動条件はpH8.6, イオン強度0.07のペロナール緩衝液を用い、膜幅6cmの泳動膜に12mAで60分通電し、Ponceau 3Rで染色した。これをdensitometer(平沼, HAD-201)にかけ、胃液蛋白全体に対するアルブミンおよびプレアルブミン分画をあわせたものの比率を求めた。一方では、泳動膜をアルブミン分画とアルブミン以外の蛋白分画とに大別して切り離し、それぞれの放射能を測定し、血清蛋白中のアルブミン分画の放射能比を算出した。

以上の成績と比較する目的で $\text{Na-}^{125}\text{I}$ 投与群についても同様の実験を行った。

また、胃液中に出現する蛋白成分の免疫学的検討と、蛋白の分子量の推定のために以下の実験を行った。すなわち前述の方法で ^{125}I -アルブミン静注後、採取したラット胃液を、透析用セロファンチューブとCarbowax 6,000を用い約3倍の濃度に濃縮し、この濃縮胃液と、抗ヒトアルブミンヤギ血清(Hyland社製)とで免疫沈降反応を行った。稀釈液は0.15M NaCl-10mM potassium phosphate buffer, pH7.5を用い、予備実験で抗ヒトアルブミンヤギ血清100 μl に対し、濃縮胃液は100 μl で、 ^{125}I -アルブミンは70 μg で強い沈降反応が出現することを確認したのち以下の実験を行った。

抗原として、濃縮胃液100 μl 単独、濃縮胃液100 μl に過剰抗原として、ヒト血清アルブミン(化血研製)700 μg を加えたもの、本実験に使用した ^{125}I -アルブミン70 μg 単独、 ^{125}I -アルブミン70 μg に過剰抗原として、ヒト血清アルブミン700 μg を加えたものの4群とし、これに抗ヒトアルブミンヤギ血清を100 μl 加え、総液量207 μl で沈降反応を行った。

このほかに、濃縮胃液100 μl に対し稀釈液のみを加えたもの、ヒト血清アルブミン70 μg に稀釈液のみを加えたもの、抗原としてラット血清を100 μl 加えた3群について総液量200 μl として沈降反応を行った。

反応時間は、すべて室温に1時間、4°Cの低温室に24時間とした。反応後3,000回転で10分間遠心し、上清と沈渣とに分け、沈渣は洗浄後、0.1M NaOHで溶解させた。この上清と沈渣の放射能をAuto-gamma Scintillation Spectrometer Well type 5110 (Packard)で測定した。

次に、濃縮胃液中の¹²⁵I結合蛋白の分子量を推定するために、濃縮胃液を、前述の0.15M NaCl-10mM potassium phosphate buffer, pH 7.5を溶出液として用い、Sephadex G-100 (カラム1.53×37cm, 68ml)でゲル濾過した。1フラクション20滴(約0.83ml)とし、溶出した試料について前述のAuto-gamma Scintillation Spectrometerにて放射能を測定した。一方、マーカーとしてヒト血清アルブミンを前述と同様の方法で溶出し、A 280nmで検出した。

2 臨床実験

健康成人3名に、早朝空腹時¹³¹I-アルブミン50μCiを静注し、1時間後に胃管を挿入し、貯溜胃液をできる限り吸引して最初の1時間の代表的胃液とした。次いで、そのまま胃液を1時間連続吸引して、これを第2時間の胃液とし、その後胃管を抜去して1時間休息したのち、再び胃管を挿入し貯溜胃液をできる限り吸引して、これを第3時間の代表的胃液とした。このような操作を6時間にわたって行った。したがって奇数時間の胃液は完全に採取されておらず、正確な1時間の分泌量は不明である。

採取した胃液の放射能(cpm/ml)に、1時間の分泌量を乗じて得られた各単位時間の排出量から投与した¹³¹I-アルブミン放射能に対する排出率を求めたが、これは前述の理由により偶数時間の胃液についてのみ可能であった。

III 成績

A 実験成績に影響を与えると考えられる因子についての検討

1 甲状腺に対する前処置の影響

Na-¹²⁵I投与後の血中放射能の減衰におよぼすヨードカリによる前処置の影響はFig. 1のごとく、Na-¹²⁵I投与後1日では、前処置群は非処置群より高値を示したが、以後急速に減衰し、2日目からは非処置群より低値を示した。

血清1ml中の全放射能に対する蛋白結合ヨード(PB-¹²⁵I)の比率はFig. 2のごとく、非処置群のPB-¹²⁵Iは48.8%~64.3%の高値を示すのに対し、前処置

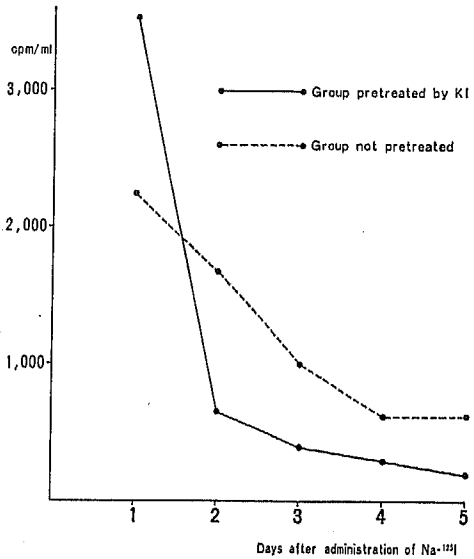


Fig. 1. Decay curves of Na-¹²⁵I in serum of rats

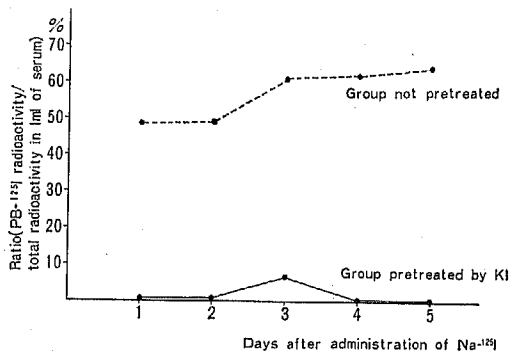


Fig. 2. Ratio of radioactivity of PB-¹²⁵I to total radioactivity of serum after administration of Na-¹²⁵I

群のそれは6.7%以下ときわめてわずかであった。

以上の成績から、ヨードカリで前処置を行った動物では、投与された¹²⁵Iは前もって投与された非放射性ヨードのため甲状腺へ摂取されず、蛋白結合ヨードに転換されることは少ない、したがって¹²⁵I-アルブミンを投与する場合においても、体内でヨードが解離される可能性が考えられるので、あらかじめ甲状腺に対し前処置を行っておくことが必要である。

2 各消化管の血液含有量

¹²⁵I-アルブミン1μCi (0.5ml) 静注投与によって算出された、3ml 脱血後の各消化管の血液含有量の平均値をTable 1に示した。各消化管の血液含有量は、

Table 1. Calculated blood volume of isolated digestive organs after sampling of 3 ml blood

Organ	Mean blood volume (ml/g)
Salivary gland	0.034 ± 0.0008
Stomach	0.023 ± 0.0041
Small intestine	0.029 ± 0.0073
Cecum	0.011 ± 0.0014
Large intestine	0.012 ± 0.0010

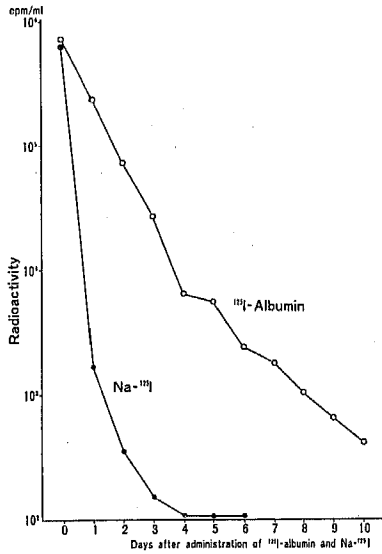


Fig. 3. Decay curves of ^{125}I -albumin and $\text{Na-}^{125}\text{I}$ in rat serum

きわめて微量であるが、以下の実験は、この血液含有量より各消化管壁中に含まれる血液の放射能を算出し、実測値の補正を行った。

B 胃におけるアルブミンの動態

1 動物実験

a ^{125}I -アルブミンの血中減衰ならびに消化管への集積

ヨードカリ前処置後、 ^{125}I -アルブミンおよび $\text{Na-}^{125}\text{I}$ を静注した 2 群のラットの血中放射能の減衰は Fig. 3 に示すごとく、 ^{125}I -アルブミンは、比較的長く血中にとどまるのに対し、 $\text{Na-}^{125}\text{I}$ は、急速に減衰し 4 日目以後は、ごくわずかに計測されるに過ぎなかった。またラットに ^{125}I -ヒトアルブミンを投与した場合のアルブミンの半減期を Kalser³²⁾ の方法によっ

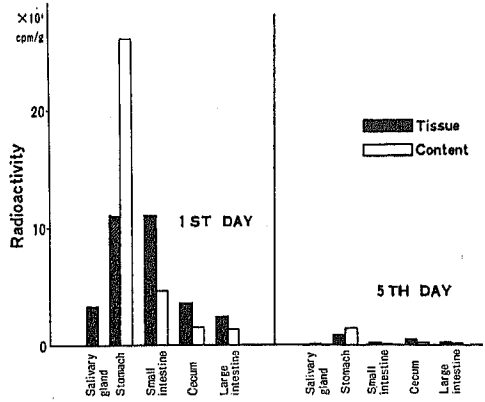


Fig. 4. Radioactivity of digestive organs in rat after administration of ^{125}I -human albumin

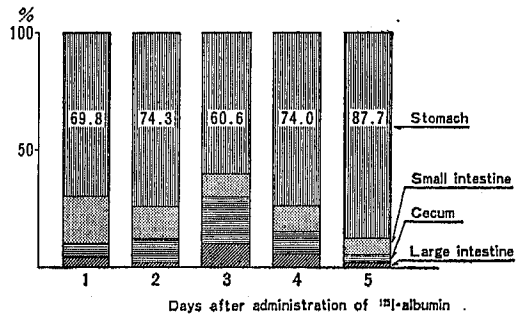


Fig. 5. Percent distribution of radioactivity in contents of rat digestive organs

て算出すると 2.9 日であった。

^{125}I -アルブミン投与後の唾液腺および各消化管壁と消化管内容における放射能を経時的に測定した成績を要約して、第 1 日と第 5 日の成績のみを Fig. 4 に示した。第 1 日における消化管の壁および内容の放射能を比較すると、胃内容では、260,656cpm/g で最も高く、下部腸管では、盲腸内容 14,787cpm/g、大腸内容 13,237cpm/g で、低いことが判明した。また、第 5 日目においても全体的に低値であるが、同様の傾向が認められた。

全消化管内容に対する各消化管内容の放射能の比率を経時的に比較すると、Fig. 5 の如く、胃内容には常に 60% 以上の放射能が測定されるのに対し、大腸では、常にきわめてわずかの放射能が測定された。

$\text{Na-}^{125}\text{I}$ 投与群についても同様の実験を行ったが、その成績は Fig. 6 に示すごとく、 $\text{Na-}^{125}\text{I}$ の各消化

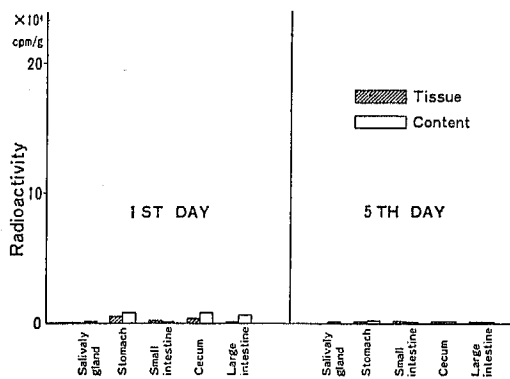


Fig. 6. Radioactivity in digestive organs of rat after administration of Na-¹²⁵I

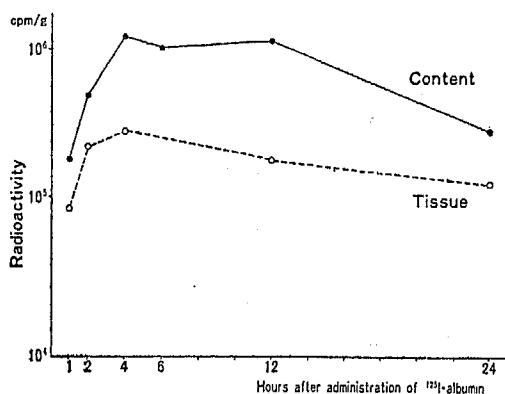


Fig. 7. Radioactivity in the gastric tissue and content of rat after administration of ¹²⁵I-human albumin

管および消化管内容への集積は、きわめてわずかであった。

以上の成績から ¹²⁵I-アルブミンは消化管の中でもとくに胃に強く集積されることが判明したので、胃壁および胃内容について、投与後24時間以内の放射能を検討した。その成績は Fig. 7 のごとく、胃内容の放射能は常に胃壁のそれを上回り、投与後4時間で最高値を示し、以後12時間までほぼ持続した。これに対して胃壁では胃内容と同様、投与後4時間で最高値を示したが以後減少の傾向を示した。

胃壁の抽出液を、蛋白分画と非蛋白分画にわけ、それぞれの放射能を比較した成績は、Fig. 8 に示すごとく、胃壁に集積した放射能の64.5%~73.2% (平均67.6%) が蛋白分画にあることが判明した。

以上の成績を要約すると、ラットに静注投与された

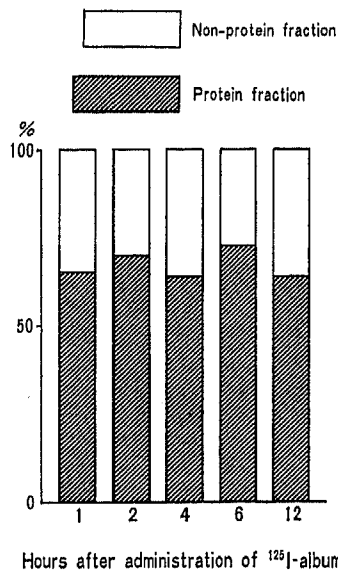


Fig. 8. Ratio of radioactivity of protein and non-protein fraction in tissue of the stomach after administration of ¹²⁵I-human albumin

¹²⁵I-アルブミンは、Na-¹²⁵I に比較すると長く血中にとどまり、消化管、とくに胃内容に高濃度に移行し、4時間で最高に達する。しかし大腸には放射能は低濃度に移行するに過ぎない。これに対し Na-¹²⁵I は血中からすみやかに消失していくとともに消化管への集積は、きわめてわずかである。したがって、消化管へ集積される主な成分としてはヨードあるいはナトリウムよりもむしろアルブミンが考えられる。また、胃壁の抽出液の分析から、放射能の64.5%~73.2%が蛋白分画に証明されたことは、胃壁に摂取された標識アルブミンの大部分が蛋白としての組成を保った状態で集積されていることを示している。

b 胃液中に出現する ¹²⁵I 結合蛋白

¹²⁵I-アルブミン静注後4時間を中心とする45分間に胃液中に分泌された放射能から算出した ¹²⁵I の胃内排出率を、3匹のラットについてみると、4.1%、4.9%および5.4%で、平均4.8±0.54%であった。

採取した胃液を濃縮し、セロファンチューブ内のものと、チューブ外のものに分けて測定した放射能の平均値では、胃液中の放射能の76.3±9.21%がチューブ内に認められた。これは前述の胃壁の蛋白分画の平均値67.6%に近い値である。すなわち、¹²⁵I-アルブミン投与後に胃壁および胃液中に出現する放射能の大部

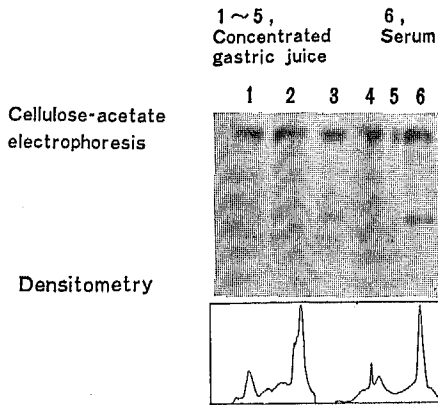


Fig. 9. Electrophoresis of concentrated gastric juice and of rat serum after administration of ¹²⁵I-human albumin

Table 2. Radioactivity of albumin fraction in concentrated gastric juice and in serum

Rats	Ratio of radioactivity (%)	
	albumin/gastric juice	albumin/serum
1	88.1	98.2
2	84.3	90.5
3	70.7	96.6
Mean±SD	81.0±12.9	95.1±5.7

分は蛋白分画に存在することが判明した。

濃縮胃液をセルロースアセテート膜で電気泳動した成績は、Fig. 9のごとくで、胃液蛋白の泳動像を、同時に行ったラット血清の泳動像と比較すると、胃液蛋白の大部分は、血清のアルブミン分画にほぼ一致する部位に泳動された。また、densitometryによる胃液総蛋白に対するアルブミン分画の割合は、51.8%、52.3%、56.8%、平均53.6±3.9%であった。泳動した胃液蛋白中に含まれる放射能に対するアルブミン分画の放射能比をみると Table 2 に示すごとく、アルブミン分画 およびその周辺に、全放射能の88.1%、84.3%、70.7%、平均81.0±12.9%が測定された。一方、ラット血清のアルブミン分画には98.2%、90.5%、96.6%、平均95.1±5.7%の放射能が測定された。

以上の成績を要約すると、ラットでは静注投与された ¹²⁵I-アルブミンの放射能の平均4.8±0.54%が45分間に胃液中に出現し、その76.3±9.21%が蛋白分画と

考えられる濃縮用セロファンチューブ内に証明された。また胃液蛋白中の放射能の平均81.0±12.9%が、アルブミン分画およびその近傍に認められたことは、胃液中に分泌された ¹²⁵Iは、アルブミンないしアルブミンに近似の易動度を示す蛋白に結合していることを示唆している。

つぎに、免疫沈降反応の成績について述べると Table 3 に示すごとく、濃縮胃液と抗ヒトアルブミンヤギ血清の間では、沈降反応は強陽性に認められたが、濃縮胃液に過剰のヒト血清アルブミンを加えたものと抗ヒトアルブミンヤギ血清の間には沈降反応は認められなかった。¹²⁵I-アルブミンと抗ヒトアルブミンヤギ血清の間には強陽性に反応を認めたが、¹²⁵I-アルブミンに過剰のヒト血清アルブミンを加えたものでは沈降反応は認められなかった。

Table 3. Precipitin reaction

Antigen	Anti-human serum albumin (μl)	Precipitation
Concentrated gastric juice	100	+++
Concentrated gastric juice + Excess amount of antigen	100	-
¹²⁵ I-albumin	100	+++
¹²⁵ I-albumin + Excess amount of antigen	100	-
Concentrated gastric juice	0	-
Human serum albumin	0	-
Rat serum	100	-

Table 4. Radioactivity of precipitate and supernatant

Antigen	Radioactivity			
	Precipitate		Super-natant	
	cpm	%	cpm	%
Concentrated gastric juice	74,683	95.3	3,683	4.7
Concentrated gastric juice + Excess amount of antigen	425	0.7	77,664	99.3
¹²⁵ I-albumin	243,393	97.5	6,289	2.5
¹²⁵ I-albumin + Excess amount of antigen	348	0.2	215,514	99.8

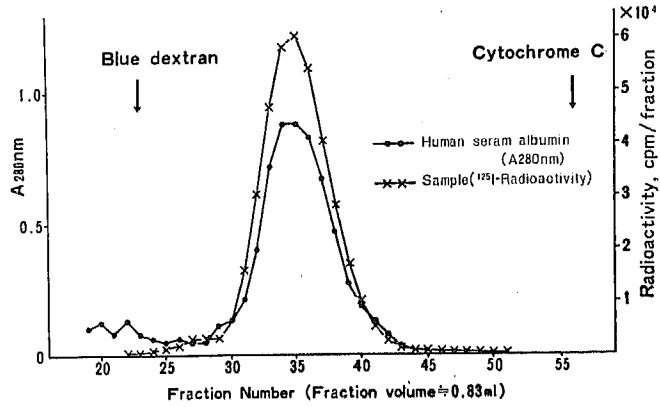


Fig. 10. Gel filtration of human serum albumin and the concentrated gastric juice on Sephadex G-100

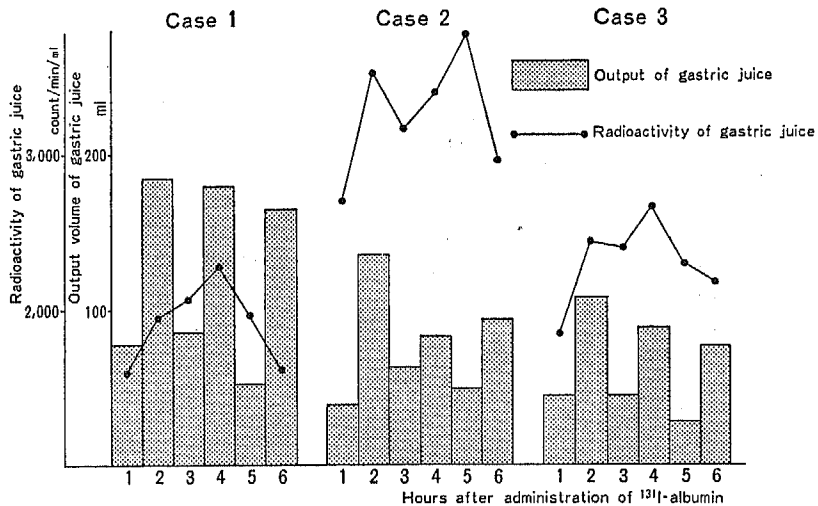


Fig. 11. Output volume and radioactivity of gastric juice in human after administration of ^{125}I -human albumin

一方、濃縮胃液と稀釈液との間、ヒト血清アルブミンと稀釈液との間、およびラット血清と抗ヒトアルブミンヤギ血清との間には、いずれも沈降反応は認められなかった。Table 4 は、沈降反応後、沈渣と上清について放射能を測定した成績である。抗ヒトアルブミンヤギ血清との間に沈降反応が認められた濃縮胃液と ^{125}I -アルブミンの 2 群では、それぞれの放射能の 95.3%、および 97.5% が沈渣に認められたのに対し、これらに過剰抗原を加えた 2 群では、沈降反応は認められず、放射能の 99% 以上が上清に認められた。

以上の成績から、使用した抗ヒトアルブミンヤギ血清とラット血清アルブミンとの間には交叉性がなく、

ラット胃液中に出現した ^{125}I 結合蛋白は、投与した ^{125}I -ヒトアルブミンに由来するものであり、また、ヒトアルブミンとしての抗原性を保持していることが判明した。

つぎに、Sephadex G-100 ゲル濾過による分子量の推定を、Fig. 10 に示す。濃縮胃液中の放射能は、A 280nm で測定したヒト血清アルブミンとほぼ同一の部位に検出された。

以上の成績から、ラットの胃液中に出現する ^{125}I 結合蛋白は、ヒト血清アルブミンとほぼ同一の分子量であると推定できる。

2 臨床実験

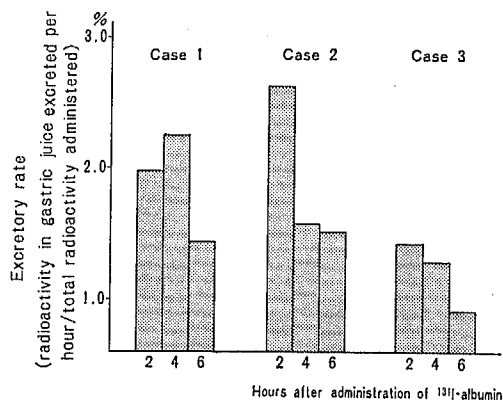


Fig. 12. Excretory rate of radioactivity in human gastric juice after administration of ^{125}I -human albumin

健康成人3名を対象として行った ^{125}I -アルブミン投与後の放射能の胃内出現は Fig. 11 に示すごとく、投与後4時間ないし5時間でピークを示した。

1時間排出率は Fig. 12 のごとく ^{125}I -アルブミン投与後2ないし4時間で最高値を示し、2時間目で1.4%、2.0%、2.6%、平均 $2.0 \pm 0.49\%$ となり、以後時間の経過とともに減少した。

IV 考 察

A 実験成績に影響を与えると考えられる因子についての検討

前もって動物に無機ヨードを投与することにより、甲状腺の $\text{Na-}^{125}\text{I}$ の摂取が抑制されることは一般に知られた事実であるが³³⁾、著者は基礎実験において 200 mg/l のヨードカリ溶液による1週間の前処置により、あとから投与された $\text{Na-}^{125}\text{I}$ はほとんど蛋白結合ヨードに転換されることなく、すみやかに体外に排出されることを確認した。以下の実験はすべてヨードカリによる前処置が行ってあるので、体内で解離された放射性ヨードの影響はほとんどないとみなしてよい。

^{125}I -アルブミンの各消化管壁への真の集積をみるためには、消化管壁に含まれている血液中の ^{125}I -アルブミンの放射能を除外して考えなければならない。そのために、まず稀釈法を用い本実験と同一の実験条件における各消化管の血液含有量および放射能を測定し、本実験における実測値を全て補正した。しかしラットにおいて血液 3ml を採取した後の各消化管の含有血液量およびその放射能は各消化管壁へ集積した放射能と比較するとわずかであったため、結果的には実測値

の補正は実験成績に大きな影響をおよぼさなかった。

B 胃におけるアルブミンの動態

動物に静注投与された ^{125}I -アルブミンが消化管に多量に摂取されることは Wetterfors¹⁷⁾⁻¹⁹⁾ らが報告しているが、その生体における意義は完全には明らかでない。一方、無機ヨードも大量胃に摂取されるという報告があり³⁴⁾、 ^{125}I -アルブミン投与時に集積される放射能がアルブミンに依存するものかヨード自身に依存するものか明らかでない。本研究において ^{125}I -アルブミンおよび $\text{Na-}^{125}\text{I}$ 投与時における放射能の血中減衰および各消化管への集積を比較したが、 $\text{Na-}^{125}\text{I}$ は血中からすみやかに消失し、消化管への集積もきわめてわずかであるのに対し、 ^{125}I -アルブミンは血中に比較的長くとどまり、胃およびその内容へ高濃度に移行することから、 ^{125}I -アルブミン投与時における胃および胃内容への放射能の集積は、ヨードよりもアルブミンにもとづくものであることは容易に推定できる。

^{125}I -アルブミン投与後24時間以内の胃内容と胃壁の放射能値の比較において、胃内容の放射能が常に胃壁のそれを上回るという成績が得られたが、これは胃壁の放射能値はラット屠殺時に胃壁を通過しつつあった標識物質の放射能値であるのに対し、胃内容のそれは ^{125}I -アルブミン投与後、ラット屠殺時まで胃内へ分泌された標識物質の総放射能と、同時間に小腸へ排出された放射能との差を意味するものであることに留意して解釈しなければならない。このような立場から胃内容の放射能値の変動を観察すれば、胃壁と同時期に最高値に達し、以後しばらくほぼ同値を維持することは理解し難いことではない。

胃壁に摂取されたアルブミンは当然代謝されつつ胃内容へ移行すると考えられるので、胃壁および胃内容における ^{125}I の carrier の存在様式が問題となる。ラットに ^{125}I -アルブミンを投与したのち、胃壁と胃内容について蛋白分画の放射能をみると、胃壁では放射能の67.6%が、胃内容では76.3 \pm 9.21%が蛋白と考えられる分画に認められ、また胃液の電気泳動では胃液蛋白の放射能の70.7%から88.1%がアルブミン分画およびその近傍に認められたことから、投与されたヒトアルブミンは胃壁に摂取されたのち、アルブミンに比較的近い形で胃内へ分泌されるものと考えられる。以上述べたごとく、本実験においては、胃壁に摂取された血清アルブミンが胃壁中をアルブミン近似の物質として通過し、アルブミン近似の物質として胃内へ放出されるという成績が得られたが、この物質が胃壁のい

かなる組織成分を通過し、いかなる機序で胃内へ放出されるかについては解明することができなかった。この点は第2編において明らかにしたい。また、胃壁の放射能の67.6%が蛋白分画に認められたので、残りの32.4%は非蛋白分画に認められたことになる。これは ^{125}I -アルブミンをラットに投与した場合、摂取された標識アルブミンが胃壁内で代謝される過程で生じたアミノ酸に結合した ^{125}I あるいは遊離した ^{125}I が非蛋白分画として測定される可能性を考慮すべきであろう。

胃内へ分泌された蛋白は、免疫学的検索ならびに分子量の検討から、アルブミンに近似の物質であることが明らかにされた。本研究においては実験の都合上、ラットに ^{125}I 標識ヒトアルブミンを用いたが、胃液の免疫学的検索では胃液中に出現した ^{125}I 結合蛋白は、抗ヒトアルブミンヤギ血清と反応し、投与した ^{125}I 標識ヒトアルブミン由来のものであることが判明した。

ここでラットに静注投与された異種アルブミンが、生体内でラット固有のアルブミンと同様な動態を示すか否かが問題となるが、Wetterfors¹⁹⁾は小動物(rat, rabbit)に異種アルブミンを1回投与した場合、5日間は明らかな免疫反応をおこさないで、実験に使用し得ることを報告している。またGitlinら²⁰⁾は ^{131}I で標識したヒトアルブミンとマウスアルブミンをそれぞれ別個にマウスに投与し、両者が同一の態度をとったことから標識ヒトアルブミンを使用し、動物のアルブミンの動態を推測することが可能であると述べている。さらにGlenertら²⁰⁾、Armstrongら²¹⁾、Katzら²⁴⁾、Franksら²⁵⁾も同様の根拠から種々の動物に異種アルブミンを投与して、その動物のアルブミンの代謝を研究している。以上の研究者らの基礎的実験にもとづいて、著者も標識ヒトアルブミンをラットに投与して実験を行ったが、このような条件で算出されたアルブミンの半減期は2.9日で、Katzら²⁴⁾の報告したラットアルブミンの半減期2.5~3.3日とほぼ一致する。また、本実験は投与後5日以内に終了しており、しかも、もっとも重要な部分は24時間以内の短時間の実験であるので、ラットに異種アルブミンを使用したことに関する問題は少ないと思われる。

ラットに ^{125}I 標識ヒトアルブミンを投与した場合、胃液中にアルブミンに近似した物質として出現する現象をヒトにおいて確認するために、健康成人3名について実験を行ったが、ヒトにおいてはラットにおける如く胃液蛋白を消化されないように採取することは困難であるので、放射能の最高分泌に到達する時間なら

びに分泌量の検討にとどめた。それによると放射能の1時間分泌量はヒトではラットと同様投与後4ないし5時間で最高に達するが、分泌量はラットの45分値 $4.8 \pm 0.54\%$ に対し、ヒトでは1時間値で $2.0 \pm 0.49\%$ とやや低値を示した。これらの数値には幽門輪結紮の有無、標識アルブミンの投与量の差、動物種および食餌の差等が関与しており、一概に比較できないが、本質的にはヒトにおいてもラットにみられたと同様の機序により胃内に蛋白が分泌されているものと推測される。

1969年 Menguy³⁵⁾は胃液中の粘液を、生化学的にmucoïd fraction, protein fractionおよびsmall molecular weight polypeptideの3つに分けているが、著者が検索を行った胃液蛋白は前2者に相当するものと考えられる。胃液中の蛋白量については動物の種によって異なるが、ヒトでは300mg/dlと報告されており³¹⁾、胃液中にはかなりの蛋白量が含まれていることが明らかである。本実験ではラットを使用したため、直接、胃液中の蛋白量を測定できなかったが、標識ヒトアルブミンを用いることにより、胃液中の蛋白成分に、血中アルブミンに類似した物質が含まれていることを明らかにした。

^{125}I -アルブミン投与後のラットの各消化管内容における放射能の分布をみると、胃内容に最も高く、下部消化管ほど低くなり、この傾向は投与後、時間の経過とは関係なくほぼ一定している。この事実は胃内へ大量に分泌された血清アルブミン由来の蛋白は消化管内で分解、吸収され、血清アルブミンとして再利用されるものと推測される。

本研究における臨床実験で、投与された ^{131}I -アルブミンの胃内容への1時間排出率が2.0%前後という成績は、臨床検査における ^{131}I -アルブミン糞便中排出率の正常値が72時間ないし96時間で1.5%以下という成績⁹⁾と比較すると大量の分泌量といわざるを得ないが、これは前述のアルブミンの再利用ということで、十分説明できる。血清蛋白のhomeostasisはこのようにして保たれるものと考えられる。

V 結 論

血清アルブミンの異化の場としての胃を中心として、胃壁ならびに胃液蛋白と血中アルブミンとの関係を検討した。

^{125}I -アルブミンをラットに静注し、胃壁および胃内容の放射能ならびにそのcarrierを検討し次の結論

を得た。

(1) ラットに¹²⁵I-アルブミンを投与した場合、胃壁および胃内容、とくに後者に放射能の集積が著明で、投与後4時間で最高値を示した。この現象はヨードよりもむしろアルブミンにもとづくものと考えられる。

(2) 胃壁および胃内容に検出された放射能の、胃壁では平均67.6%が蛋白分画に、胃液では平均76.3±9.21%が蛋白と考えられる分画に存在した。

(3) 胃液蛋白の電気泳動では、その大部分が血清蛋白のアルブミンにほぼ一致する分画に泳動され、胃液蛋白中の放射能の70.7%~88.1%がアルブミン分画ならびにその近傍に認められた。

(4) 胃液中に出現した¹²⁵I結合蛋白はヒトアルブミンとしての抗原性を有しており、分子量もアルブミンに近似している。

(5) 標識ヒトアルブミンを静注投与した場合の放射

能の胃内排出率は、ラットでは45分値で平均4.8±0.54%、ヒトでは1時間値で平均2.0±0.49%であった。

(6) 以上の成績から、ラットに静注された¹²⁵I-ヒトアルブミンは、その一部は血液を介して胃壁にとりこまれ、アルブミンに近似の物質として胃内に分泌された後、小腸でほとんど消化吸収されることが考えられた。

本研究の要旨は、第62回(1976年3月)日本消化器病学会総会、第19回(1977年10月)日本消化器病学会秋季大会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導をいただきました故降旗力男教授、生化学教室橋本 隆教授に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Martin, L. : Gastric juice, I. Studies on the proteins of the gastric juice of humans, II. Studies on a urea-splitting enzyme and pepsin in relation to the proteins. J Biol Chem, 102 : 113-136, 1933
- 2) Meyer, K., Smyth, M. E. and Palmer, W. J. : On glycoproteins, III. The polysaccharides from pig gastric mucosa. J Biol Chem, 119 : 73-84, 1937
- 3) Glass, B. G. and Boyd, J. L. : The three main components of the human gastric mucin : Dissolved mucoprotease, dissolved mucoprotein, and mucoid of the gastric visible mucus, Part I-III. Gastroenterology, 12 : 821-878, 1949
- 4) 和田武雄 : 胃液分泌の臨床. 日内会誌, 8 : 651-697, 1961
- 5) 和田武雄, 佐藤勝己, 木下 博 : 可視粘液ならびに可溶性粘液の分泌と分析. 最新医学, 23 : 2087-2097, 1968
- 6) 井林 淳 : 胃液蛋白質の臨床的研究. 札幌医誌, 15 : 231-246, 1959
- 7) 吉川春夫 : 胃液蛋白質に関する研究. 札幌医誌, 12 : 419-427, 1957
- 8) 宮地敏夫 : 胃液蛋白質の臨床的研究. 札幌医誌, 25 : 296-310, 1964
- 9) Citrin Y., Sterling, K. and Halsted, A. J. : The mechanism of hypoproteinemia associated with gastric hypertrophy of the gastric mucosa. N Engl J Med, 257 : 906-912, 1957
- 10) Steigman, F., Hyman, S. and Kannapel, L. W. : Large gastric rugae : benign or malignant. Gastroenterology, 32 : 72-84, 1957
- 11) Waldmann, A. T., Steinfeld, L. J., Dutcher, F. T., Davidon, D. J. and Gordon, S. R. : The role of the gastrointestinal system in "idiopathic hypoproteinemia". Gastroenterology, 41 : 197-207, 1961
- 12) Glass, B. G. and Ishimori, A. : Passage of serum albumin into the stomach. Am J Dig Dis, 6 : 103-133, 1961
- 13) Gordon, S. R. : Exudative enteropathy, abnormal permeability of the gastrointestinal tract demonstrable with labelled polyvinylpyrrolidone. Lancet, I : 325-326, 1959
- 14) Waldmann, A. T. : Gastrointestinal protein loss demonstrated by ⁵¹Cr-labelled albumin. Lancet, II : 121-123, 1961

- 15) Wetterfors, J., Liljedahl, O. S., Plantin, O. L. and Berke, G. : Hypoalbuminaemia in ulcerative colitis and certain forms of enteritis. Clinical and pathological aspects. *Acta Med Scand*, 174 : 529-549, 1963
- 16) Märki, H. H. und Wuhrmann, F. : Proteinlustsyndrome, Zur Pathogenese der Hypoproteinämie beim nephrotischen Syndrom und beim enteralen Proteinverlust. *Schweiz Med Wochenschr*, 91 : 1521-1529, 1961
- 17) Wetterfors, J., Gullberg, R., Liljedahl, O. S., Plantin, O. L., Birke, G. and Olhagen, B. : Role of stomach and small intestine in albumin breakdown. *Acta Med Scand*, 168 : 347-363, 1960
- 18) Wetterfors, J. : Albumin, investigations into the metabolism, distribution, and transfer of albumin under normal and certain pathological conditions, with special reference of the gastro-intestinal tract, *Acta Med Scand*, 177 : 1-72, 1965
- 19) Wetterfors, J. : Catabolism and distribution of serum-albumin in the dog. *Acta Med Scand*, 177 : 243-256, 1965
- 20) Glenert, J., Jurnum, S. and Riemer, S. : The albumin transfer from blood to gastrointestinal tract in dog. *Acta Chir Scand*, 124 : 63-74, 1962
- 21) Armstrong, B. F., Margen, S. and Tarver, H. : Plasma protein VII. Site of degradation of serum albumin, *Proc Soc Exp Biol Med*, 103 : 592-596, 1960
- 22) Campbell, M. R., Cuthbertson, P. D., Mackie, W., McFarlane, S. A., Phillipson, T. A. and Sudsanch, S. : Passage of plasma albumin into the intestine of the sheep. *J Physiol (Lond)*, 158 : 113-131, 1961
- 23) Gitlin, D., Klinenberg, R. J. and Hughes, L. W. : Site of catabolism of serum albumin. *Nature*, 181 : 1064-1065, 1958
- 24) Katz, J., Rosenfeld, S. and Sellers, A. : Site of plasma albumin catabolism in the rat. *Am J Physiol*, 200 : 1301-1306, 1961
- 25) Franks, J. J., Edwards, W. K., Lackey, W. W. and Fitzgerald, B. J. : The role of the gut in albumin catabolism, II. Studies in enterectomized rabbits. *J Gen Physiol*, 46 : 427-434, 1963
- 26) 飯田 太, 佐藤 晃 : 胃粘膜保護因子としての mucous barrier に関する研究. *日消会誌*, 72 : 1569-1578, 1975
- 27) 飯田 太, 小池 綏男, 津金次郎, 若林正夫, 佐藤 晃, 降旗力男, 松田国昭, 佐藤 晃, 山田隆司 : 蛋白漏出性胃腸症の外科的ならびに病理的考察. *外科治療*, 34 : 1-8, 1976
- 28) Iida, F. : Mucous barrier and peptic ulcer of the stomach. *Gastroenterol Jpn*, 11 : 175-181, 1976
- 29) 飯田 太 : 蛋白漏出性胃腸症の病態と外科治療. *日医事新報*, 2796 : 14-18, 1977
- 30) Iida, F., Sato, A., Koike, Y. and Matsuda, K. : Surgical and pathologic aspects of protein losing gastropathy. *Surg Gynecol Obstet*, 147 : 33-37, 1978
- 31) 河合 忠, 青木紀生 : 血清蛋白分画, pp. 77-84, 宇宙堂八木書店, 東京, 1977
- 32) Kalsner, M. H. : In "Gastroenterology" Vol. II, Bochar, L. H. (ed.), pp. 510-529, W. S. Saunders Co., Philadelphia and London, 1967
- 33) 広野 稔 : 放射性ヨウ素による甲状腺機能検査に関する研究, 第3編 家兎甲状腺の¹³¹I-甲状腺摂取率並びに¹³¹I-血漿転換率に及ぼす抗甲状腺剤の影響. *信州医誌*, 8 : 334-338, 1959
- 34) Halmi, S. N. and Stuelke, G. R. : Comparison of thyroidal and gastric iodide pumps in rats. *Endocrinology*, 64 : 103-109, 1959
- 35) Menguy, R. : Gastric mucus and the gastric mucous barrier. *Am J Surg*, 117 : 806-812, 1969

(55.9.11 受稿)