

甲状腺機能異常と胃粘膜病態

東京医科大学内科学第三講座 (指導: 伊藤久雄主任教授)

酒 井 裕 幸

Thyroid Dysfunction and Gastric Mucosal Lesions

Hiroyuki SAKAI

Third Department of Internal Medicine, Tokyo Medical College (Director: Prof. Hisao ITO)

It is said that gastric ulcer rarely occurs in hyperthyroid patients since gastric juice secretion is decreased in these patients. We prepared rats with thyroid dysfunction in order to investigate gastric mucosal lesions in this disease. Using male Wistar rats, 1-thyroxine was intraperitoneally given at 0.1 mg/day for 2 consecutive weeks from age 6 weeks old to induce hyperthyroidism, while the thyroid gland was removed at age 5 weeks to induce hypothyroidism. Acute gastric mucosal lesions (AGML) were then induced by oral administration of 60% ethanol at 3 ml/kg B.W. through a gastric tube at age 8 weeks old. AGML more frequently occurred in the hyperthyroidism group than in the hypothyroidism group. When gastric juice secretion was quantified by the gastric perfusion technique, the response of gastric juice secretion to gastrin was found to be increased in the hyperthyroidism group. Contents of TBA reactants and hexosamines in the gastric mucosa tended to be decreased in the hyperthyroidism group, but there were no significant differences between each group. Serum gastrin levels increased in the hyperthyroidism group.

These results suggested that gastric juice tends to be hyperacidic in hyperthyroidism, facilitating the onset of AGML, because the response of gastric juice secretion to gastrin increased in this group, in addition to the increase in serum gastrin levels.

緒 言

甲状腺機能異常の胃粘膜に及ぼす影響については、様々な報告がある。甲状腺機能亢進症では、胃酸分泌が低下しており、胃潰瘍は発症しにくく、その原因として自律神経機能異常が考えられていた^{1)~3)}。しかし、近年の Brain-Gut Axis の研究の進歩により、TRH (Thyrotropin-Releasing-Hormone), GABA など様々な中枢神経系の物質が胃潰瘍発症に大きな影響を及ぼす事が明らかにされつつある⁴⁾⁵⁾。特に TRH は胃酸分泌を促進する事よ

り、潰瘍惹起物質と推測されている⁶⁾。しかし、甲状腺機能亢進症では胃酸分泌が増加傾向であったとする報告⁷⁾や機能低下症では胃液分泌量や胃液酸度が低下するという報告⁸⁾もあり、胃酸分泌動態は TRH の変動のみでは説明しえない。

そこで今回著者は、甲状腺機能異常の胃粘膜に及ぼす影響を更に明らかにする目的で、甲状腺機能亢進及び低下ラットを実験的に作製し、エタノールによる AGML (Acute Gastric Mucosal Lesions) の発症の程度について検討、さらに胃粘膜防御因子として胃粘膜ヘキソサミン含量、活性酸素が引き起こ

(1994年12月16日受付, 1995年1月5日受理)

Key words: 甲状腺機能異常 (Thyroid dysfunction), 胃粘膜 (Gastric mucosa), 急性胃粘膜病変 (Acute gastric mucosal lesions), 胃酸分泌 (Gastric acid output), ガストリン (Gastrin)

す脂質過酸化反応の指標として胃粘膜内 TBA (Thiobarbituric acid) 反応物質及び胃酸分泌能を検討した。

対象動物及び方法

1) Wistar 系雄性ラット (動物繁殖研究所) を実験に用い、実験中は通常飼料 (オリエンタル社製) を与え、自由摂食、自由飲水とした。

甲状腺機能亢進ラットは 6 週齢より L-thyroxine (シグマ社, 米国) 0.1 mg を 0.4 ml の蒸留水に溶解し 2 週間連日腹腔内投与して作製した。甲状腺機能低下ラットは 5 週齢時に甲状腺摘除術を施行して作製した。機能低下ラット及び対照ラットは、6 週齢より生理食塩水 0.4 ml を 2 週間連日腹腔内投与した。実験は 8 週齢時に最終投与時より 24 時間絶食とした後行った。

2) エタノール投与による AGML 誘発

無水エタノール (和光純薬) に蒸留水を加えて 60% エタノールを作製、胃ゾンデを用いて 3 ml/kg B.W. を投与した。90 分後にペントバルビタール (100 mg/kg) 麻酔下で開腹し、噴門部及び幽門部を結紮、下大静脈より採血後、胃を摘出した。摘出した胃は大弯切開し肉眼的に胃粘膜を観察し、病変の長径 (mm) × 短径 (mm) の総和を測定し、潰瘍係数を算出した。

3) 胃灌流法を用いた胃酸分泌能の測定

ペントバルビタール (80 mg/kg) 腹腔内投与にて麻酔し、腹部正中切開にて胃部露出、食道-噴門部を金属クリップにて血管を含まないように結紮、前胃と十二指腸よりカニューレを胃内に挿入し、幽門輪を木綿糸にて結紮して実験に用いた。灌流は、ラットの体温を可及的に 37°C に保った上で、Perfusion Pump を用いて毎分 1 ml の割合で生理食塩水を前胃より挿入したカニューレより注入、幽門側のカニューレより自然排出してくる灌流液を 10 分毎に分割採取した。30 分間の前灌流後、amogastrin 30 μ g を腹腔内投与し、以後 60 分まで 10 分おきに灌流液を採取した。採取液は pH-Meter にて pH を測定し、0.01N-NaOH にて pH 7.0 まで滴定し、要した NaOH 量より求めた酸度 (mEq/l) を体重 250 g 当りに換算した。amogastrin 投与後の胃酸分泌量の検定に際しては、対数変換を行い比較した。実験終了後、下大静脈より採血を行い、TSH (Thyroid Stimulating Hormone), FT₃ (Free Triiodothy-

ronine), FT₄ (Free Thyroxine) を測定した。

4) 胃粘膜内 TBA 反応物質及びヘキササミン含量の測定

ペントバルビタール (100 mg/kg) 麻酔下で開腹し、2) と同様に麻酔後、速やかに胃を摘出し、大弯切開した後、粘膜内 TBA 反応物質及びヘキササミン含量の測定に供した。

a) TBA 反応物質の測定

胃粘膜内 TBA 反応物質は大川らの方法⁹⁾ に準じ測定した。摘出胃を大弯切開後速やかに胃体部粘膜をメスでそぎとり湿重量を測定した後、1.0 ml の 1.15% KCl 溶液に浸しホモジナイズした (ポリトロン 10-35 キネマチカ社, スイス)。磨碎液 100 μ l をサンプリングし、8.1% ラウリル硫酸ナトリウム 200 μ l, 20% 酢酸 buffer 1.5 ml, 0.67% TBA 試薬 1.5 ml を加えよく攪拌した。さらに蒸留水 0.7 ml を加え、95°C 60 分間温浴した。流水にて冷却した後、蒸留水 1.0 ml, n-ブタノール・ピリジン混液 (15:1) 5.0 ml を加え 2 分間振盪攪拌し、3000 rpm にて 15 分間遠心を行い、上層 (n-ブタノール・ピリジン層) の蛍光強度を測定した (日立分光蛍光光度計 650-10S, 東京, EX 515 nm EM 553 nm)。標準値として 5 nmol のテトラエトキシプロパンを用いて検量線を作製し TBA 反応物質量を算出した。測定値は湿重量 (Wet Weight) 1 g 当たりの量に換算し、nmol/g W.W. で表した。

b) ヘキササミンの定量

ヘキササミンの測定は Neuhaus¹⁰⁾ の方法に基づく桶谷らの簡易測定法¹¹⁾ に準じて行った。検体は -80°C にて凍結保存し、凍結乾燥後、重量を測定した。試料は 4N-HCl 2.0 ml を加え oil bath にて 100°C 9 時間加水分解し、4N-NaOH 2.0 ml で中和後、東洋濾紙 6 号にて濾過した。濾液 2.0 ml にアセチルアセトン試料 2.0 ml を加え 100°C 20 分間温浴後、流水にて冷却し、イソアミルアルコール 4.0 ml を加え 10 分間室温にて振盪し、3000 rpm にて 10 分間遠心を行った。上層 2.0 ml に Ehrlich 試薬 1.0 ml を加えて混和し、室温で 15 分間放置後、530 nm 吸光度を測定した (日立自記分光光度計 U-3200, 東京)。標準物質は 0, 5, 10, 20 μ g/ml のグルコサミン (シグマ社, 米国) を用い検量線を作製した。測定値は乾燥重量 (Dry Weight) 1 mg 当たりの量に換算し μ g/mg D.W. で表した。

5) 血液試料の測定

表 1 各群の甲状腺機能・血中ガストリン値
(mean±S.D.)

	TSH (ng/ml)	FT ₃ (pg/ml)	FT ₄ (ng/dl)	gastrin (pg/ml)
Control (n=51)	4.9±1.7	1.3±0.7	4.0±1.7	155±77
Hyperthyroid. (n=38)	3.5±1.3	4.3±4.0	6.8±1.8	304±180
Hypothyroid. (n=49)	54.7±25.8	0.5±0.2	0.6±0.8	137±51

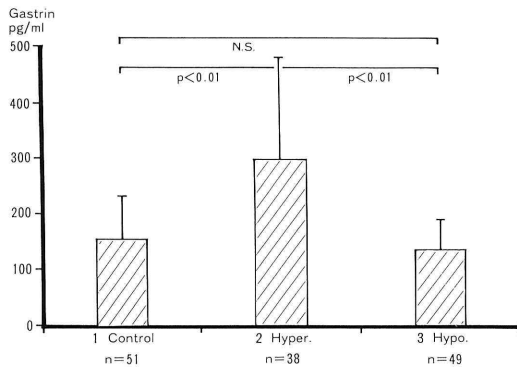


図 1 血中ガストリン値の比較
(mean±S.D.)

採取された血液は 2500 rpm にて 10 分間遠心し、得られた血清で RIA により、FT₃: アマレックス-M フリー T₃ (日本コダック, 東京), FT₄: アマレックス-M フリー T₄ (日本コダック, 東京), TSH: ラット-TSH (アマシャム, イギリス), Gastrin: ガストリンリアキット 2 (ダイナボット, 東京) を測定した。

6) 病理

剖検により得られた胃は 20% 中性緩衝ホルマリン液にて 12 時間固定後パラフィン包埋し、2 μm の切片を作製し、免疫組織染色を行った。免疫組織染色は、50 倍に希釈した抗 PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 抗体 (PC-10, ダコ社, デンマーク) を一次抗体として labeled streptavidin biotin (LSAB) 法により染色し、DAB (Diaminobenzidine) にて発色させ、ヘマトキシリンで核染色した後、光顕にて観察した。

7) 統計処理

有意差の検定は対照ラットを対照とした non parametric の Dunnett 検定を用い、危険率 5% 以下を有意とした。機能亢進群と機能低下群の間は Scheffe 検定を行った。一部、胃酸分泌測定の実験では対数変換する事により、正規分布である事が確認できたため、parametric な Dunnett 検定・Scheffe

検定を用いた。

結 果

1) 甲状腺機能の評価

対照群の甲状腺機能は TSH: 4.9±1.7 ng/ml, FT₃: 1.3±0.7 pg/ml, FT₄: 4.0±1.7 ng/dl であった (表 1)。

FT₃ を指標とし、対照群の平均値と標準偏差を参考に、対照群 0.7~2.7 pg/ml, 甲状腺機能亢進群 2.8~5.2 pg/ml (mean+2SD~5SD) とした。甲状腺機能低下群については、測定感度が 0.5 pg/ml なので範囲を 0.6 pg/ml (mean-SD) 以下とし、各群の中でこの条件を満たさないラットについては、対象から除外した。

2) ガストリン値

ガストリン値は対照群: 155±77 pg/ml, 甲状腺機能亢進群: 304±180 pg/ml, 機能低下群: 137±51 pg/ml と亢進群は対照群に比し有意に高値であったが、低下群は対照群と有意差はなかった (図 1)。

3) エタノール投与による AGML 誘発

60% エタノール投与により各群に AGML が認められた。AGML は肉眼的には図 2 のように線状または点状の浅い潰瘍を呈し、機能低下ラットでは潰瘍も小さく、出血の程度も少なかった。

各群の潰瘍係数は対照群 14.4±16.3, 機能亢進群 31.7±25.1, 機能低下群 7.4±9.4 であり、対照群に比し機能亢進群で高値、機能低下群で低値の傾向であったが、有意差は認められなかった。機能亢進群と機能低下群の比較では有意差をみた (p<0.01) (図 3)。しかし、各群間で体重差が著明なため、胃粘膜面積の個体差を考慮し、潰瘍係数を体重 250 g に補正すると、甲状腺機能亢進群で 36.3±28.7 と対照群 13.5±15.3 に比し有意に高値の成績であった (p<0.05)。機能低下群では 10.0±13.2 と対照群と有意差はなかったが、機能亢進群より有意に低値であった (p<0.01) (図 4)。各群での AGML の陽性率は機能亢進群 100%、対照群 79%、機能低下群

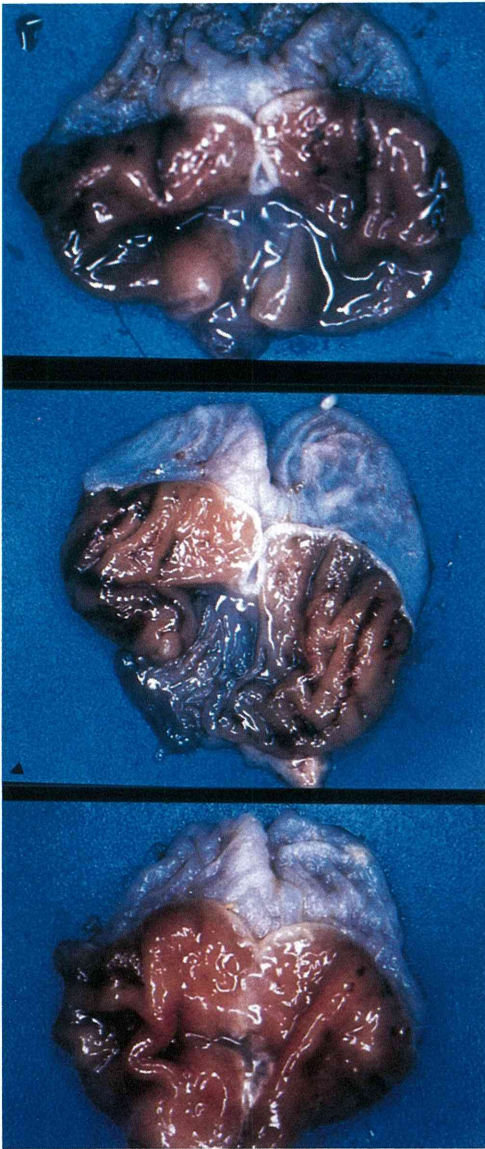


図2 60%エタノール投与でのAGMLの代表的所見
上: 対照ラット
中: 甲状腺機能亢進ラット
下: 甲状腺機能低下ラット

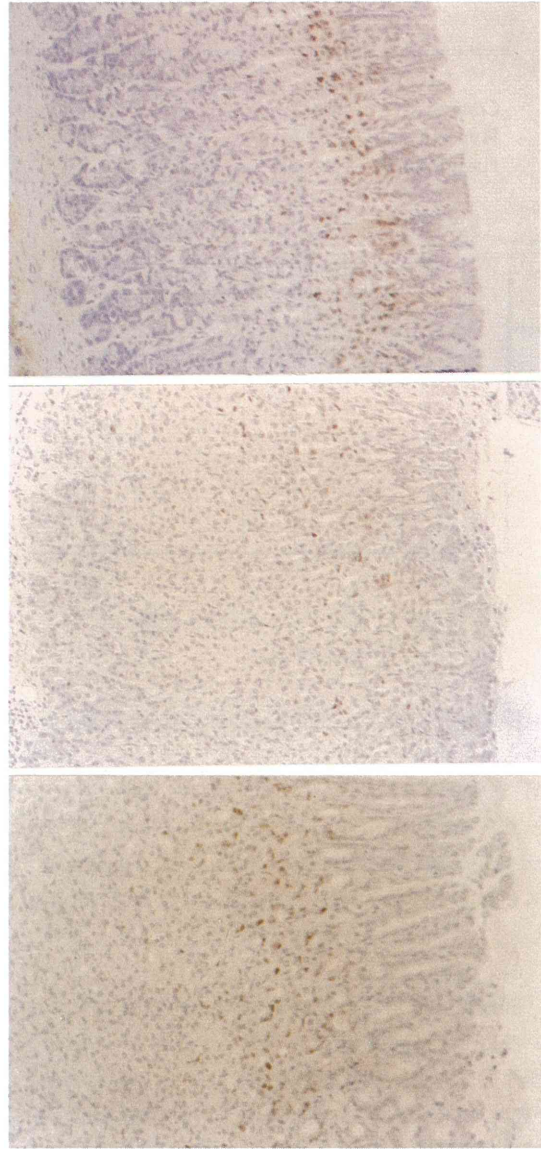


図9 抗PCNA抗体を用いた胃粘膜の免疫組織染色 (×50)
上: 対照ラット
中: 甲状腺機能亢進ラット
下: 甲状腺機能低下ラット

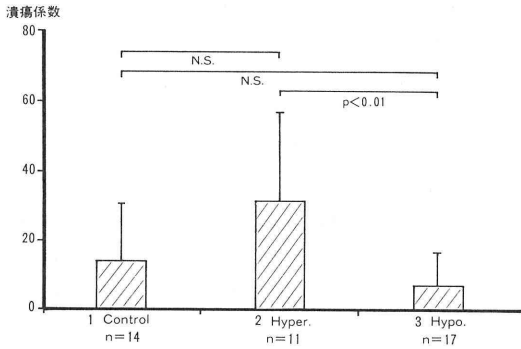


図 3 60%エタノール投与での潰瘍係数の比較 (mean±S.D.)

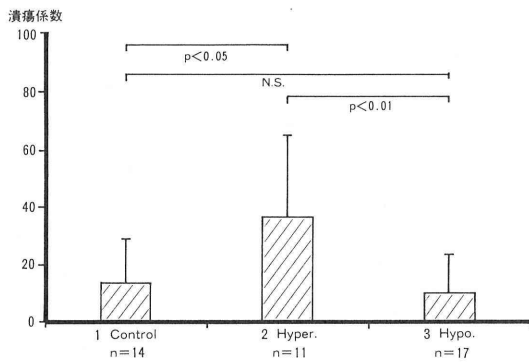


図 4 体重 250 g に補正した潰瘍係数の比較 (mean±S.D.)

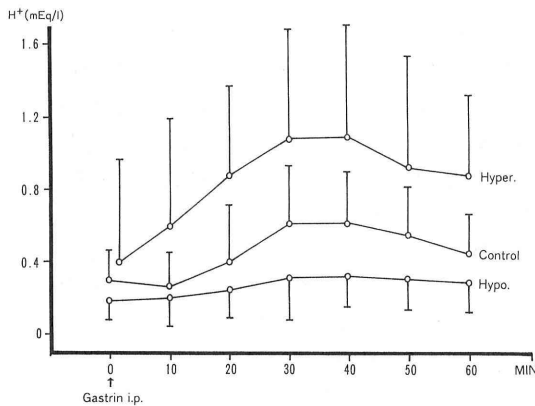


図 5 amogastrin 投与での胃酸分泌の経時変化

71%と機能亢進群で高率の傾向であった。

4) 胃灌流法による胃酸分泌の測定

基礎酸分泌量(前値)は対照群 0.27±0.17 mEq/l,機能亢進群 0.37±0.22 mEq/l,機能低下群 0.20±0.08 mEq/l と各群間で有意差を認めなかった。amogastrin 投与後,機能亢進群で反応が大きく,機

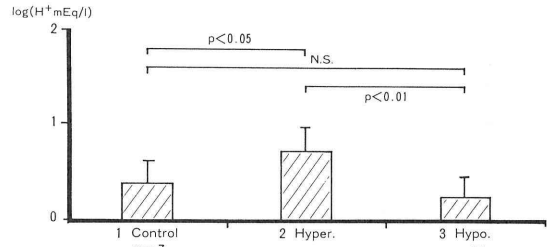


図 6 amogastrin 投与後 60 分間の胃酸分泌量の比較 (mean±S.D.)

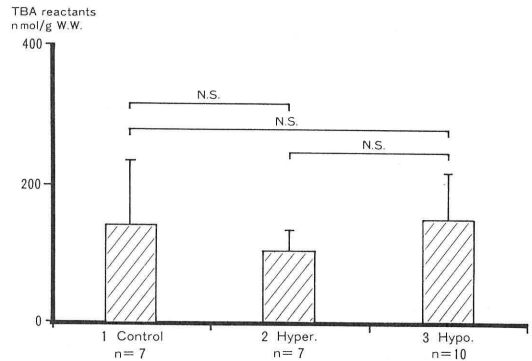


図 7 胃粘膜内 TBA 反応物質の比較 (mean±S.D.)

能低下群では低反応を示した(図 5)。amogastrin 投与後 60 分間の胃酸分泌量で比較すると機能亢進群で 5.81±2.79 mEq/l と,対照群 2.56±1.49 mEq/l,機能低下群 1.83±0.96 mEq/l に対して有意に高値であった。機能低下群は対照群に比し低値傾向であったが有意差は認めなかった(図 6)。

5) 胃粘膜内 TBA 反応物質

胃粘膜内 TBA 反応物質は対照群 141±93 nmol/g W.W. に対し,機能亢進群で 105±29 nmol/g W.W.,低下群 151±67 nmol/g W.W. と亢進群で低い傾向であるが有意の差を認めなかった(図 7)。

6) 胃粘膜ヘキサミン含量

胃粘膜ヘキサミンは対照群 11.6±1.7 µg/mg D.W. に対し,機能亢進群 10.0±1.9 µg/mg D.W.,低下群 11.6±2.5 µg/mg D.W. と,機能亢進群は他の二群に比しやや低値であったが,有意差を認めなかった(図 8)。

7) 抗 PCNA 抗体を用いた免疫組織染色

対照ラットでは増殖細胞帯を中心に PCNA 陽性細胞が多数観察されたのに対し,機能亢進ラットで

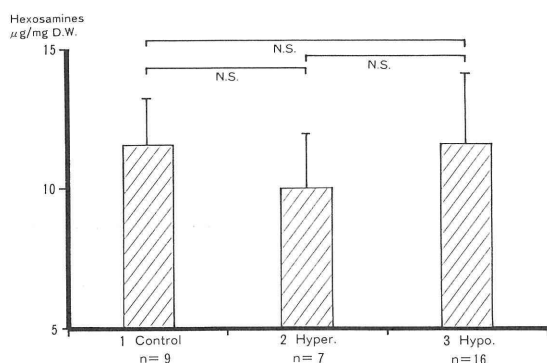


図 8 胃粘膜ヘキソサミン含量の比較
(mean±S.D.)

は陽性細胞の分布が一定でなく、陽性細胞数も減少している傾向であった。機能低下ラットではその傾向は無く対照ラットと明らかな違いは認められなかった (図 9)。

考 察

Hernandez らは甲状腺摘除ラットに cold restraint stress (CRS) を負荷すると、AGML を起こしやすい事を報告した¹²⁾。今回著者は甲状腺機能亢進及び低下ラットに絶食下 60% エタノールを経口投与し、AGML 誘発を試みた。甲状腺機能亢進ラットでは対照ラットに比べて AGML が発症しやすく、低下ラットでは発症しにくい成績であった。Hernandez との結果の違いは用いたストレスの違いによとも考えられるが、甲状腺機能亢進と低下では耐寒性に差があると考えられ、対象動物に同一の CRS を負荷しても同程度のストレスにはならない可能性もあり、エタノール負荷と異なった成績となった可能性も考えられた。著者は甲状腺機能異常ラットにおける胃の攻撃因子及び防御因子の差の有無についての検討を行った。酸分泌の指標としては、血中ガストリン値及び amogastrin 刺激による胃酸分泌能の検討を行ったが、甲状腺機能亢進ラットではガストリン刺激に対し胃酸分泌が過剰であり、甲状腺機能低下ラットでは反応が低い成績であった。Aoyagi らは、甲状腺機能亢進症の患者で tetragastrin 刺激を行い、胃酸分泌能を検討しているが、MAO (Maximum Acid Output) は高値傾向であった事を報告しており⁷⁾、今回の著者の成績と一致するものであったが、従来より報告されている甲状腺機能亢進症では低酸で消化性潰瘍の合併は稀である

という報告²⁾とは相反するものであった。又、甲状腺機能異常症で血中ガストリンを測定した成績では、亢進症では高ガストリン血症になるという成績¹³⁾があり、今回の著者の成績と一致するものであった。Mulholland らは機能亢進で前庭部の G 細胞が増加した事を報告¹⁴⁾しており、甲状腺機能亢進症での高ガストリン血症は胃酸の feedback ではなく、甲状腺ホルモン直接作用とも考えられた。甲状腺機能亢進症では、ガストリンの高値が胃酸分泌を刺激し、かつ胃壁細胞のガストリンに対する反応の良い事も推測された。

上原らは TRH の投与により AGML が誘発される事を報告しており¹⁵⁾、TRH が迷走神経を介して胃酸分泌を亢進させ AGML を発症させるとした。近年実際に TRH の測定が行われようになり、甲状腺機能亢進、低下及び対照群との間で血中 TRH 値に差がないとの報告¹⁶⁾や、甲状腺機能低下ラットでは、血中 TRH は上昇しているが、視床下部内の TRH は低下しているという報告¹⁷⁾もあり、甲状腺機能異常での TRH 分泌に関しては一定の見解が得られていない。今回の著者の成績は、上原らの報告と異なり、前に述べた諸家の報告と併せて考えると、甲状腺機能異常における AGML 発症での TRH の関与は小さいと推測された。

最近、阿部らは、糖尿病ラットに絶食負荷したところ、対照ラットに比し AGML の発症率が高い事を報告している¹⁸⁾。その原因の一つとして糖尿病ラットは対照群に比し、TBA 反応物質が高値を示す事を報告している。今回の著者の成績は甲状腺機能亢進、低下及び対照ラット間で TBA 反応物質には差がなく、糖尿病ラットと甲状腺機能異常ラットの AGML 発症の機序は異なる事が推測された。

AGML 発症には、攻撃因子以外に防御因子の関与も重要である。阿部らは糖尿病ラットにおいて、対照群に比べて胃粘膜ヘキソサミン含量の減少した事を報告している¹⁸⁾。甲状腺機能異常ラットにおいて胃粘膜ヘキソサミン含量を測定した著者の成績は、有意差は無いものの、機能亢進ラットでは対照及び低下ラットに比べて低い傾向であった。また著者の PCNA を染色した成績は、機能亢進ラットで PCNA 陽性細胞の分布が乱れる事を示しており、この事は甲状腺機能亢進ラットでは細胞回転の亢進が起きている可能性が推測される。金沢らは同調培養法を用いて cell cycle とホルモン合成の関連を検討

しているが、分裂期にはホルモン合成が乏しく、G2期では増加する事を報告している¹⁹⁾。PCNAの染色状態よりみて機能亢進ラットでは細胞回転の亢進があるため、旁細胞よりのヘキソサミン産生が低下している事も考えられる。しかし、機能亢進ラットのヘキソサミン含量の低下はわずかであり、又一方でPCNA陽性細胞数の減少という細胞回転の遅延を示唆する所見も同時に認められており、細胞回転を含めた防御因子系のAGML発症に対する関与は小さいと考えられる。今回の機能亢進ラットでのエタノール投与による高率のAGMLの発症には、攻撃因子系がより大きく関与していると推測された。

結 語

1) 甲状腺機能亢進・低下ラットに24時間の絶食負荷後60%エタノールを経管投与し、AGMLの発症を検討した。体重補正を行った潰瘍係数は、機能亢進ラットでは対照ラット・機能低下ラットより有意に高値であった。機能低下ラットは対照ラットより低値傾向であった。

2) 胃灌流法を用いた胃酸分泌測定では、基礎酸分泌量では、甲状腺機能亢進ラットで高値、機能低下ラットで低値傾向であった。ガストリン刺激後60分間の胃酸分泌量では、機能亢進ラットは対照ラット、機能低下ラットに比し、有意に高値であった。機能低下ラットは対照ラットに比し低値傾向であった。

3) 胃粘膜内TBA反応物質、胃粘膜ヘキソサミン含量は各群で差はなかった。

4) 甲状腺機能亢進ラットのAGML発症には防御因子より攻撃因子が重要と考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました伊藤久雄教授、林徹教授、本研究の御指導を頂いた金沢真雄講師に深甚なる謝意を捧げます。又、御指導、御協力頂いた本多光一博士、野本さい子女史、第三内科教室員各位に感謝致します。

本論文の一部要旨は、第22回日本実験潰瘍学会(1994年、大阪)で発表した。

参 考 文 献

- 1) Dotevall, G. et al: Relationship between gastric and thyroid function. *American Journal of Digestive Diseases* **12**: 1230~1239, 1967.
- 2) 青柳和彦 他: 甲状腺機能亢進症と消化性潰瘍の関連性, *医学のあゆみ* **66**: 241~251, 1968.
- 3) Garbat, A.L. et al: The simultaneous occurrence of active peptic ulcer and active hyperthyroidism. *J. Mount Sinai Hosp. N.Y.* **17**: 787~792, 1951.
- 4) 山崎勝也: PCPGABA, TRH など4種の中樞性胃酸分泌刺激薬のラット胃灌流標本における効力比較. *日薬理誌* **96**: 11~21, 1990.
- 5) Tache, Y. et al: Brain regulation of gastric secretion: influence of neuropeptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **77**: 5515~5519, 1980.
- 6) Hernandez, D.E. et al: Thyrotropin-releasing hormone: medullary site of action to induce gastric ulcers and stimulate acid secretion. *Brain Res.* **459**: 148~152, 1988.
- 7) Aoyagi, K.: Gastric secretion in hyperthyroidism. *Japanese J. Surgery* **12**: 198~202, 1982.
- 8) 湯橋十善: Shay潰瘍に及ぼす甲状腺の影響. *慈恵医大誌* **76**: 1379~1394, 1961.
- 9) 大川 博 他: 組織中過酸化脂質の測定について. *過酸化脂質研究* **2**: 15, 1978.
- 10) Neuhaus, D.W. et al: Determination of hexosamines in conjugation with electrophoresis on starch. *Anal. Chem.* **29**: 1230~1233, 1957.
- 11) 桶谷 清 他: ヘキソサミンを指標とした粘液糖蛋白質の簡易測定法. *医学のあゆみ* **131**: 745~749, 1984.
- 12) Hernandez, D.E.: Influence of thyroid states on stress gastric ulcer formation. *Life Science* **42**: 1754~1764, 1988.
- 13) Seino, Y.: Hypergastrinemia in hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **43**: 852~855, 1976.
- 14) Mulholland, M.W.: Relationship of antral gastrin cells and serum gastrin to thyroid function in the rat. *Endocrinology* **114**: 840~844, 1984.
- 15) 上原 聡 他: 視床下部-下垂体-甲状腺系と急性胃粘膜病変. *日本消化器病誌* **89**(臨時増刊): 224, 1992.
- 16) Mallik, T.K. et al: Measurements of thyrotropin-releasing hormone-like material in human peripheral blood by affinity chromatography and radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **54**: 1194, 1982.
- 17) jia-lun chen et al: Hypothalamic and serum TRH and neurotransmitters in hyper- and hypothyroid rats. *日本内分泌学会誌* **64**: 961, 1988.

- 18) 阿部守雄: 糖尿病ラットの急性胃粘膜病変とプロトンポンプインヒビターの効果について. 東医大誌 **52**: 250~258, 1994.

- 19) 金澤真雄 他: ITC-1 cell の同調培養による cell-

cycle と glucagon 分泌. *Peptide Hormones in Pancreas* **3**: 194~200, 1983.

(別刷請求先: 〒160 新宿区西新宿 6-7-1

東京医科大学内科学第三講座 酒井裕幸)
