

胃ろう管ラットにおけるテストミールの胃内容排出測定法

薬師院はるみ*・竈戸美佳*・下地秀作*・吉田 勝*・
林 隆敏**・竹野 一*・斎藤俊之*

Measurement of Gastric Emptying of Some Test-meals in Chronic Gastric Fistula Rats.

Harumi YAKUSHIIN*, Mika KAGOTO*, Shusaku SHIMOJI*, Masaru YOSHIDA*,
Takatoshi HAYASHI**, Kazu TAKENO* and Toshiyuki SAITO*.

Gastric emptying was measured with three test-meals of 0.15 M sodium chloride, 10% and 30% sucrose solution in rats implanted chronically with a gastric fistula according to the double sampling method described by Conover et al. (1987). Gastric secretion was not stimulated when the test-meals were infused directly into the stomach through the gastric fistula. Saline test-meal was rapidly emptied in an exponential manner.

A considerable delay was observed in the gastric emptying of 10% sucrose solution and more delay in that of 30% sucrose solution.

These results were discussed on the hypotheses of control system on gastric emptying.

緒 言

摂取された食物は、一旦胃に溜められ、その後は徐々に十二指腸へ排出される。その排出速度は胃内容が液体か固体かと言った物理学的性質や炭水化物、脂肪、蛋白質などの化学的成分やその栄養価などによって著しく異なることが知られている^{7,8,10,12)}。

従来、これらの研究において胃内容排出の測定に諸種の方法が試みられて来た³⁾。全身麻酔の適用は胃運動を含めて消化管運動は強く抑制されることがよく知られている。従って非麻酔下、すなわち動物に意識のある状態

で実験を行わなければならないが、そのような条件下でテストミールを経口またはカテーテルで投与すると味覚などを介する中枢性(脳相)の胃液分泌^{9,16)}が起こる。そのため胃内容排出を単に胃内容減少から算出することが出来ない。

このような観点から、本研究ではWEINGARTEN & POWLEY (1980) の記載¹⁶⁾に準じてラットに慢性的に胃ろう管を装着した。このラットについてCONOVER et al. (1987) の記載²⁾に準じて胃内容排出を経時的にモニターする方法の確立を試みた。さらに本法を用いて10% (等張) および30% (高張) ショ糖溶液の胃排出を生理食塩水のそ

* 鳥取大学農学部家畜薬理学講座

* Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, Tottori University

** 鳥取大学農学部附属家畜病院

** Animal Hospital, Faculty of Agriculture, Tottori University

れと比較検討した。

試薬および方法

1. 供試動物

ウィスター系ラット、体重、250-400 g、雌雄の別なく用いた。動物は糞食を防止するため床が金網のすのこになっている個別ケージに収容し、固形飼料（日本クレア製CE2）と水を自由摂取とした。胃ろう管装着手術または胃内容排出実験の前夜より水以外の絶食とした。飼育室の温度は $24 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。

2. 使用試薬

硫酸アトロピン（大阪扶桑薬工(株)）、ペントバルビタールナトリウム（ネンブタール、大日本製薬(株)）、フェノールレッドなどは和光純薬工業(株)の分析用試薬を用いた。

3. 胃ろう管装着手術

前夜より絶食させたラットに対して、硫酸アトロピン（0.05%溶液）0.1ml/100 g 体重を背部皮下に注射した。つづいてペントバルビタールナトリウム（50mg/ml水溶液）40mg/kgを腹腔内へ注射した。この用量で外科麻酔が約1時間半に亙り持続した。

動物を背位に保定し、上腹部を剪毛し、ヨードチンキを塗布して消毒した。次に上腹部皮膚を胸骨の後縁から正中線に沿って約2.5cmに亙り切開し、さらに腹壁を切開して胃を露出した。次に胃の近位胃低部を約3mmに切開し、その創口端をモスクイト鉗子で固定しながら胃ろう管（夏目製作所、KN-365, R-2C）のディスク部分を挿入した。そして創口の周囲の胃壁を絹糸（No.5-0）で巾着縫合を施して胃ろう管を胃壁に固定した。ここで胃ろう管の脱落を防止するため、ろう管にブラチック製ディスクを嵌めた。次に、正中線より左側へ約1.5cm、最後の肋骨縁より後方へ2～3cmの位置の皮膚および腹壁に約3mmの小切解を施した。その創口よりモスクイト鉗子を挿入して胃ろう管の開口部を体外に引き出し、ステンレス製のキャップを嵌めた。創口の周囲の腹壁および皮膚に絹糸（No.3-0）で巾着縫合を施し、胃ろう管を腹壁に固定した。引きつづき、最初の腹壁の創口を腸線（No.3-0）で結節縫合を施して閉鎖し、次いで皮膚の創口をナイロン糸（No.5-0）で結節縫合を施し、閉鎖した。術後管理としては、7～10日間は毎日、2～3回皮膚の手術創面にポビドンヨード（イソジン、明治製薬）を塗布した。

餌は、術後1日は水のみとし、次いでコンデンスミルクを与え、徐々に通常の固形餌料へ切り換えた。

3. 胃内容排出の測定

本測定実験は同一動物について1日1回とし、隔日以上の間隔で繰返し測定した。

胃ろう管装着ラットを実験前夜より絶食させ、水は自由摂取とした。

胃ろう管からステンレス製キャップを外し、ポリエチレンチューブ（外径2mm、長さ30cm）を接続したキャップを押し込んだ。このチューブは胃内容へ約5mm突出し、開口部が吸引時に胃粘膜による閉鎖を避けるため先端から3mmぐらいのところの四方に小孔を設けた。またチューブの他端は三方コックに接続し、2本の注射筒（1～10ml）をセットした（Fig. 1）。このチューブの中間部分はラットに咬まれて損傷されるのを防ぐためステンレススチール製スプリング（直径5mm）の中を通すことによって保護した。

測定中での動物の歩行を制限するためケージを金網で狭く仕切った。

テストミールとして、生理食塩水、10%、30%ショ糖溶液を用いた。テストミールには、体積測定の指標として非吸収性の色素として0.02%（w/v）フェノールレッド溶液を5%に加えた。

まず体温程度に暖めた少量の生食で胃ろう管を通じて胃内を洗浄した。10mlのテストミールを胃ろう管を通じて約1分かけて徐々に注入した。注入開始後2分の時点で後述のVa検体として胃内容の0.5mlを採取し、次いでプローブ色素溶液（0.1%フェノールレッド溶液）1mlを注入し、注射筒を引いたり、押ししたりして胃内容と十分に混合したのち、後述のVa'検体として0.5mlを採取した。

以後の検体採取は10分間隔で4～6回行った。

採取した検体には除蛋白処理¹⁾を加えた。すなわち、検体0.5mlに蒸留水3.5mlを加えて希釈し、その2.5mlを

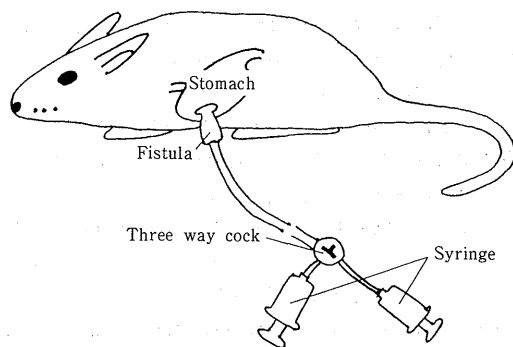


Fig. 1 Sampling system from gastric fistula rats.

採り、20%トリクロール酢酸0.25mlを加えた。その混合液を3100回転/分で30分間、遠心分離を行い、その上清液を分離した。この上清液に0.5N NaOH 4 mlを加えた。このように調製した検体について124型日立分光光度計を用いて波長560mmで色素濃度CgおよびC'gを測定した。各指標の算出はCONOVER et al. (1987) の記載²⁾に従って行った。

胃内容積 $V_g = V_p(C_p - C'_g) / (C'_g - C_g) + V_a$

- なお、C_g : V_g中の初期プローブ色素濃度
- V_p : プローブ色素の体積
- C_p : V_pのプローブ色素濃度
- C'_g : V_gとV_p混合液のプローブ色素濃度
- V_a : サンプルング体積

胃内容排出量 $V_e = 2De / (C'_g + C_{g2})$

- なお、De : 排出されたプローブ色素量
- C'_{g1} : t₁でのプローブ色素濃度
- C_{g2} : t₂でのプローブ色素濃度

胃液分泌量 $V_s = V_{g2} - V_{g1} + V_e$

- なお、V_{g1} : t₁でのV_g
- V_{g2} : t₂でのV_g

胃内容残留量 $V_r = V_{gt} - V_{st}$

- なお、V_{gt} : t₂でのV_g
- V_{st} : t₂でのV_s

4. 統計処理

Pared t test によった。

成 績

10mlの生理食塩水をろう管を介して直接に胃内へ注入後2分の時点での胃内容積はFig. 2に示すように約3 mlとなり、その後は徐々に減少した。動物は10数時間に互たり絶食させたが、テストミール注入前の胃内容積が1 ml前後と考えられるので、注入した生理食塩水の大部分は2分の時点で小腸へ排出され、胃内容積は指数関数的に減少することを示している。10%シヨ糖溶液では、Fig. 2に示すように2分の時点で約5 mlに、30%シヨ糖溶液では2分の時点で約7 mlとなり、シヨ糖濃度に比例して胃排出が遅延した。

胃排出実験中の胃液分泌はFig. 3に示すように、生理食塩水と同様にいずれのシヨ糖溶液においても、ろう管を介して直接に胃内へ注入したので、胃液分泌は殆どな

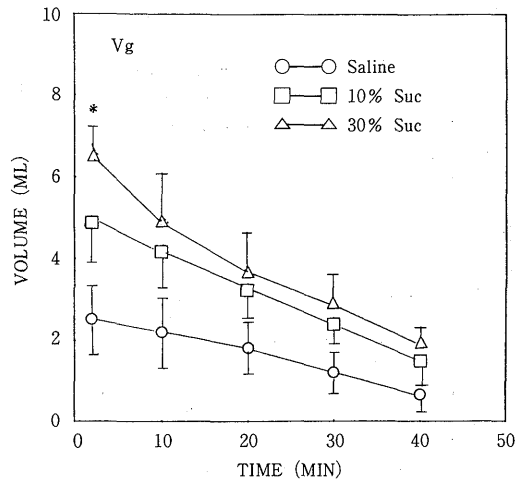


Fig. 2 Time course of gastric volume in conscious gastric fistula rats. Ten ml of test meals, saline, 10% and 30% sucrose solution containing 2.5% (v/v) of 0.02% phenol red as a probe dye, were infused directly into stomach through gastric fistula at time 0. Each point and bar represent the mean ± Se (n=3). *, P<0.05 vs. saline test meal.

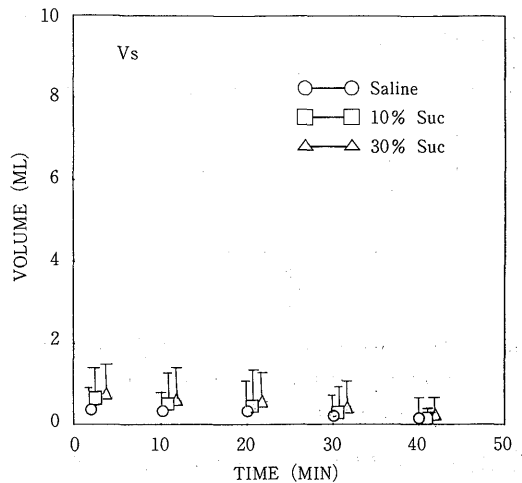


Fig. 3 Time course of gastric secretion in conscious gastric fistula rats. Explanations as in Fig.2.

かった。

従って胃内容排出は、Fig. 4に示すように胃内容積の変化に一致した成績を示した。すなわち、生理食塩水の

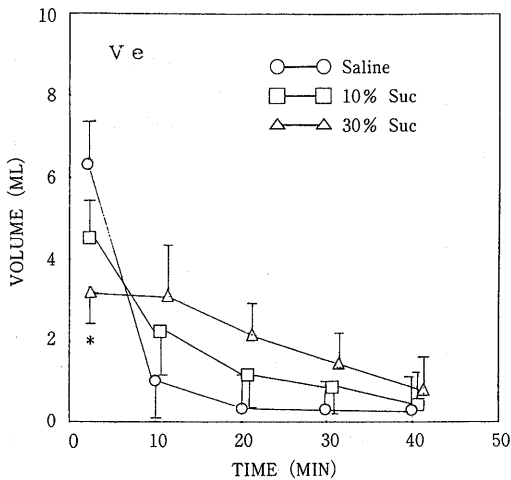


Fig. 4 Time course of gastric emptying in conscious gastric fistula rats. Explanations as in Fig.2.

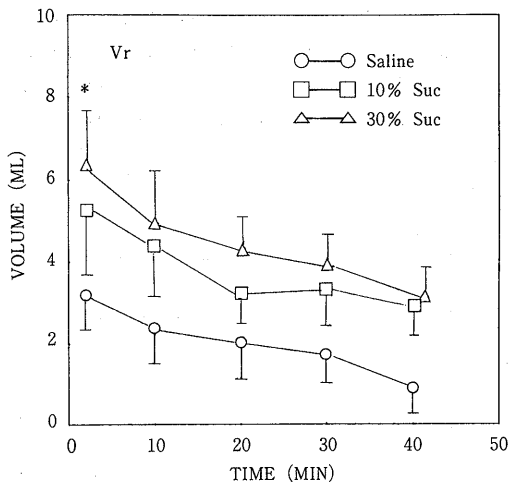


Fig. 5 Time course of initial test meal remaining in stomach in conscious gastric fistula rats. Explanations as in Fig.2.

大部分は10分以内に排出され、その後は殆どなくなっている。それに対して糖溶液の排出はかなり遅延し、また10分後に互ってもその排出が持続するが、40分の時点では殆ど終了しているように見える。

しかし、各テストミールの残留量の時間経過をFig. 5に示すように、40分の時点では生理食塩水でも約1mlの胃内容積に対してシヨ糖溶液では約3ml前後の残留がみられた。

考 察

本研究における重要な課題の一つは、胃ろう管装着ラットについて意識のある状態で、すなわち非麻酔下でテストミールの正常な胃排出測定法を確立することである。

胃ろう管にチューブを接続するためある程度の運動範囲を制限しなければならないが、四肢の保定は行わなかった。しかし、実際にテストミールを胃ろう管を介して直接に胃内へ注入すると、ラットは時として咀嚼動作を示すが、多くの場合、十分な沈静状態を示し、何らの保定を要しなかった。唯、胃ろう管にチューブを接続する際に不用意にろう管を捻ったりすると激しく暴れたりするので注意を要する。

本研究は従来^{2,6,14)}と一致して、胃ろう管を介して胃内へ直接に注入した生理食塩水は2分以内のT_{1/2}をもった指数関数的パターンで排出された。

これに対して胃内容に炭水化物、脂肪、蛋白質などの栄養素を含むものはその胃排出が遅延することが示されている。本研究においても胃ろう管を介して胃内へ直接に注入したシヨ糖溶液の胃排出は生理食塩水のそれより遅延し、しかもシヨ糖濃度が高い程より遅延する傾向がみられた。しかし、CONOVER et al. (1987)の成績²⁾と比べると本研究の方が遅延が少ないようである。その理由は不明であるが、恐らく飼養管理の差異などによる術後の小腸粘膜の糖受容体の感受性の差によるかも知れない。

この種の実験における胃液分泌に関してWEINGARTEN and POWLEY (1980)の成績¹⁶⁾によると、36%シヨ糖を含む偽餌テストでは明らかな胃液分泌が現れるが、同じテストミールを胃ろう管を介して胃内へ直接に注入しても胃液分泌は発現せず、このことは胃液分泌は味覚などの感覚刺激が中枢神経系に作用することによって惹起され、すなわち脳相 (Cepharic phase)の反応が重要であり、糖それ自体が胃粘膜への直接の刺激とならないという報告と一致した。

十二指腸粘膜における糖に対する特異的受容体の局在が、迷走神経から求心性の神経活動を誘導することによって検討されており、反射性に胃底部の収縮が抑制されることが示されている^{5,11,15)}。

十二指腸粘膜には糖以外にも脂肪酸やアミノ酸の受容体や浸透圧や酸度に対する感受器も存在し、これらもまた胃内容排出の調節に関係することも示唆されている^{10,12,17)}。

以上の考察から、本研究における等張シヨ糖溶液の胃排出の遅延は小腸粘膜の糖受容体への作用を介する反射性の胃蠕動運動への抑制によるものであり、高張シヨ糖溶液の胃排出のさらなる遅延は小腸粘膜の糖受容体への作用に加えて浸透圧刺激も加わったものと考えられる。

謝 辞：本研究に対して実験器具および実験動物の一部の提供を頂いたビオフェルミン製薬(株)に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Barguist E., Zinner M., River J. and Tache Y.: Abdominal surgery-induced delayed gastric emptying in rat: role of CRF and sensory neurons. *Am. J. Physiol.*, **25**, G616-G620 (1992)
- 2) Conover K. L., Weingarten H. P. and Collins S. M.: A procedure for withintrial repeated measurement of gastric emptying in the rat. *Physiol. Behav.*, **39**, 303-308 (1987)
- 3) Elashoff J. D., Reedy T. J. and Meyer J. H.: Analysis of gastric emptying data. *Gastroenterol.*, **83**, 1306-1312 (1982)
- 4) Erskine L. and Hunt J. N.: The gastric emptying of small volumes given in quick succession. *J. Physiol.* **313**, 335-341 (1981)
- 5) Forster E. R., Green T. and Dockrey G. J.: Efferent pathways in the reflex control of gastric emptying in rats. *Am. J. Physiol.*, **260**, G499-G504 (1991)
- 6) Houghton A. D., Liepins P., Clarke S. and Mason R.: Role of the antrum in the gastric emptying of a non-nutrient liquid in the rat. *Scan J. Gastroenterol.*, **27**, 748-752 (1992)
- 7) Hunt J. N. and Stubbs D. E.: The volume and energy content of meals as determinant of gastric emptying. *J. Physiol.*, **245**, 209-225 (1975)
- 8) Kelly K. A.: Gastric emptying of liquids and solids: role of proximal and distal stomach. *J. Physiol.*, **239**, 71-76 (1980)
- 9) Lane A., Ivy A. C. and Ivy E. K.: Response of the chronic gastric fistula rat to histamine. *Am. J. Physiol.*, **192**, 221-228 (1957)
- 10) 真島英信: 生理学 392-399 文光堂 東京 (1974)
- 11) McHugh P. R.: The control of gastric emptying. *J. Auto. Nerv. Syst.*, **9**, 221-231 (1983)
- 12) Mei N.: Intestinal chemosensitivity. *Physiol. rev.*, **65**, 211-237 (1985)
- 13) Read N. M. and Houghton L. A.: Physiology of gastric emptying and pathophysiology of gastroparesis. *Gastroenterol. Clin. North America*, **18**, 359-373 (1989)
- 14) Strunz U. T. and Grossman M. I.: Effect of intragastric pressure on gastric emptying and secretion. *Am. J. Physiol.*, **235**, E552-E555 (1978)
- 15) Treacy P. J., Jamieson G. G., Dent J., Devitt P. G. and Heddl R.: Duodenal intramural nerves in control of pyloric motility and emptying. *Am. J. Physiol.*, **263**, G1-G5 (1992)
- 16) Weingarten H. P. and Powley T.: A new technique for the analysis of phasic gastric acid responses in the unanesthetized rat. *Lab. Anim. Sci.*, **30**, 673-680 (1980)
- 17) 矢島高二: 消化管の感覚. 科学, **57**, 23-30 (1987)