

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

自律神経 (1992.06) 29巻3号:271～275.

中枢性basic fibroblast growth factor (bFGF)の胃潰瘍形成および胃排出機能に及ぼす影響

奥村利勝、上原聡、北守茂、谷口由輝、渡辺泰男、辻 和之、並木正義

●原 著

中枢性 basic fibroblast growth factor (bFGF) の 胃潰瘍形成および胃排出機能に及ぼす影響

奥村利勝 上原 聡 北守 茂 谷口由輝
渡辺泰男 辻 和之 並木正義

キーワード: basic fibroblast growth factor, central nervous system, water-immersion restraint ulcer
thyrotropin-releasing-hormone-ulcer, Gastric emptying

抄録: 最近, われわれは細胞増殖因子の一つである basic fibroblast growth factor (bFGF) が中枢神経系に作用して胃分泌を抑制することを見いだした。今回は更に, 中枢の bFGF が胃潰瘍の形成および胃排出能に影響を及ぼすか否かについて Wistar 系雄性ラットを用いて検討した。その結果, bFGF の大槽内投与は用量依存性に水浸拘束ストレス潰瘍および thyrotropin-releasing hormone 潰瘍の発生を抑制した。しかしながら, 同量を末梢に投与しても抗潰瘍作用は認められなかった。すなわち, bFGF は中枢神経系に作用して, 抗潰瘍作用を有することが明らかになった。一方, bFGF の胃排出に及ぼす影響を phenol red 法を用いて調べたところ, bFGF の大槽内投与では胃排出能を用量依存性に抑制した。しかし, 同量を末梢に投与しても胃排出能には影響がみられなかった。すなわち, bFGF は中枢神経系に作用して胃排出を遅延させることが明らかになった。以上の成績より, bFGF は中枢神経系において neuromodulator として胃潰瘍の形成や胃排出の調節に関与するものと考えられる。

(自律神経, 29: 271~275, 1992)

緒 言

Basic fibroblast growth factor (bFGF) は 1974 年 Gospodarowicz¹⁾により牛の下垂体より単離同定されたアミノ酸 146 個よりなるポリペプチドである。その後の研究により bFGF は中枢神経系を始め種々の組織に存在することが明らかにされ, 様々な細胞の増殖に関与することが示されている²⁾。

一方, bFGF はその細胞増殖因子としての作用に加えて thyrotropin と prolactin の分泌を変化させることより内分泌機能調節に関与することが推定されている³⁾。また, 脳室内に投与された bFGF がラットの摂食量を抑制することから, bFGF は中枢神経系において chemical messenger として生理機能調節に関与する

可能性が指摘されている¹²⁾。しかしながら, 中枢神経系に存在する bFGF の胃腸機能調節に及ぼす影響は全く知られていなかった。その点に関して, 最近われわれは, 脳室内に投与した bFGF が用量依存性に胃酸・ペプシン分泌量を抑制することを見だし, bFGF が中枢神経系で neuromodulator として胃分泌調節に関与することを明らかにした⁹⁾。

胃酸・ペプシン分泌は胃潰瘍形成の立場からは潰瘍形成的に作用することがよく知られている。bFGF は中枢性に胃酸・ペプシン分泌を抑制することから, 胃潰瘍形成に対し抑制的に作用することが推定される。そこで本研究ではまず, 中枢の bFGF が胃潰瘍形成に及ぼす影響をみた。また胃潰瘍形成に胃分泌と共に重要な役割を果たすことが知られている胃運動を評価するために, bFGF の胃排出機能に及ぼす効果についても検討した。

旭川医科大学第3内科

〒078 旭川市西神楽4線5号3-11

(受付日:平成4年2月24日)

方法

体重が約 200 g の Wistar 系雄性ラットを 24 時間絶食させた後、実験に用いた、bFGF は遺伝子組換え型ヒト bFGF (Funakoshi, Co.) を生理食塩水に溶解して用いた。Thyrotropin-releasing hormone (TRH) は Peninsula Lab. (USA) より、胃排出能測定試薬は Sigma (USA) より購入した。

bFGF の胃潰瘍形成に対する影響は、水浸拘束ストレス潰瘍¹⁵⁾および TRH 潰瘍⁵⁾の二つの実験潰瘍モデルを用いて検討した。ラットを軽いエーテル麻酔下に脳定位固定装置に装着し、種々の濃度の bFGF (0, 0.1, 0.5, 1.0 $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}/\text{rat}$) を既報¹⁰⁾に準じて大槽内に投与した。bFGF 投与 30 分後に、TRH (1 $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}/\text{rat}$) を大槽内に投与、または水浸拘束ストレス負荷 (23°C) を開始した。TRH 投与 4 時間後および水浸拘束ストレス負荷 5 時間後に胃を取り出し、既報¹¹⁾に準じて胃粘膜病変の程度を観察し、ulcer index (mm) で表示した。また、bFGF の末梢効果を見るため、bFGF (0.5, 1.0 $\mu\text{g}/0.5 \text{ ml}/\text{rat}$) を腹腔内に投与し、同様にして TRH 潰瘍および水浸拘束ストレス潰瘍の形成に及ぼす影響を検討した。

bFGF の胃排出能は Phenol red 法¹³⁾に従って測定した。すなわち、試験食は、50 mg の Phenol red を methylcellulose 溶液 (1.5%, W/V) 100 ml に溶解して作製した。bFGF または生理食塩水を大槽内または腹腔内に投与した直後、試験食 1.5 ml を経口チューブを用いて胃内に投与した。まず、胃排出能に及ぼす bFGF の用量反応性を見るため、各種濃度の bFGF を投与し、試験食投与 30 分後に胃を取り出した。また経時変化を見るために、bFGF (1 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$) を大槽内に投与し、試験食投与 20, 30, 40, 50 分後に胃を取り出した。胃内に残存している試験食を集め、0.1 M の NaOH 溶液 100 ml でホモジュネートした。Phenol red の測定は上清を 20% trichloroacetic acid, 0.5 M NaOH で処理した後、分光光度計 (560 nm) で測定した。また、胃内に試験食を投与した直後に胃を取り出し、胃内部の Phenol red を測定して試験食投与 0 分後の値とした。胃排出能 (Gastric emptying, %) は以下の式で計算した。

胃排出能 (Gastric emptying, %)

$$\left(1 - \frac{\text{胃内残存 Phenol red 量}}{\text{試験食投与 0 分後の Phenol red 量}}\right) \times 100$$

結果は mean \pm SEM で表わした。統計は Duncan's

new multiple range tests を用い p, 0.05 以下を有意とした。

結果

bFGF 中枢投与の胃潰瘍形成に及ぼす影響

24 時間絶食させたラットの大槽内または腹腔内に bFGF (0, 0.1, 0.5, 1.0 $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}/\text{rat}$) を投与し TRH 潰瘍および水浸拘束ストレス潰瘍形成に及ぼす影響を検討し図 1 に示した。中枢に投与された bFGF は用量依存性に TRH 潰瘍を抑制し、0.5 μg 以上の用量でその抑制は統計学的に有意であった (図 1)。一方、同量の bFGF の末梢投与は抗潰瘍作用を發揮しなかった。水浸拘束ストレスモデルでは、bFGF の中枢投与 1.0 $\mu\text{g}/\text{rat}$ の用量でのみ統計学的に有意な潰瘍形成抑制作用が認められた (図 2)。一方、bFGF の末梢投与は水浸拘束ストレス潰瘍に対しても効果を發揮しなかった。

bFGF 中枢投与の胃排出能に及ぼす影響

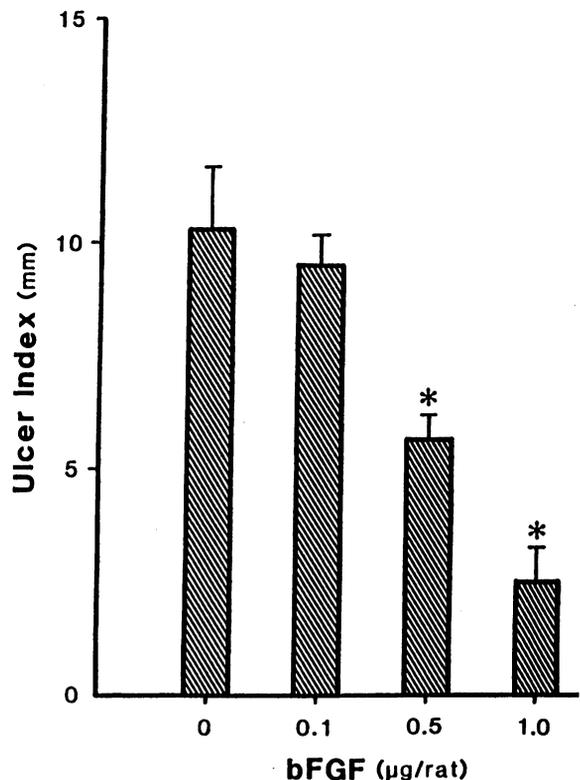


図 1 TRH 潰瘍形成に及ぼす bFGF 大槽内投与の影響: 24 時間絶食させたラットの大槽内に bFGF (0, 0.1, 0.5, 1.0 μg) を投与し、30 分後に TRH を大槽内に注入し 4 時間後に形成される胃粘膜病変を評価した。ラットはそれぞれ 10 匹使用した。各値は mean \pm SEM で表した。*p < 0.01。

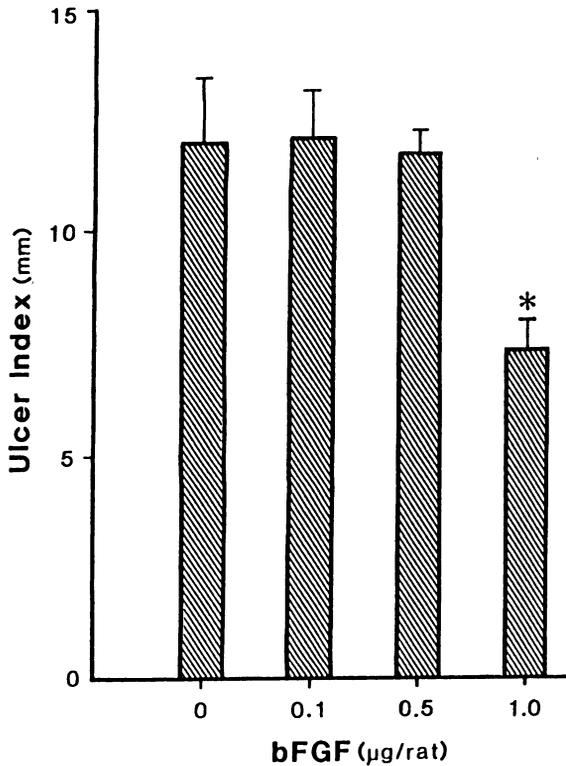


図2 水浸拘束ストレス潰瘍の形成に及ぼすbFGF大槽内投与の影響。24時間絶食させたラットの大槽内にbFGF(0, 0.1, 0.5, 1.0 μg)を注入し, 30分後に水浸拘束ストレス負荷を開始した。ストレス5時間後に胃粘膜病変を評価した。ラットはそれぞれ10匹使用した。各値はmean±SEMで表した。*p<0.01。

24時間絶食させた動物にbFGF(0, 0.1, 0.5, 1.0 μg/10 μl/rat)を大槽内または腹腔内に投与し, 試験食投与30分後に胃排出能を測定した結果を図3に示す。bFGFの中枢投与は胃排出能(Gastric emptying)を用量依存性に抑制した。この抑制効果はbFGF 0.5 μg以上の用量で統計学的に有意であった。一方, 末梢に投与されたbFGFは胃排出能に影響を及ぼさなかった。次にbFGF(1.0 μg/rat)の胃排出抑制効果の経時変化を検討した。bFGFは試験食投与後, 20分から50分まで生理食塩水投与のコントロール群に比べて有意に胃排出能を抑制した(図4)。

考察

最近の研究からbFGFは細胞増殖因子としての作用以外に, 種々の生理機能調節に関与することが明らかにされてきている¹¹⁾¹²⁾。この一環として最近われわれはbFGFが中枢神経系を介して用量依存性に胃酸・ペプシン分泌を抑制することを見いだした⁹⁾。本研究

では更に中枢のbFGFが胃潰瘍形成に影響を及ぼすか否か検討した。bFGFの中枢投与はTRH潰瘍および水浸拘束ストレス潰瘍の発生を有意に抑制したが, 末梢投与は影響を与えなかった。すなわち, bFGFは中枢神経系に作用して抗潰瘍作用を有することが明らかになった。TRH潰瘍の成因は現在のところ, TRHが胃を支配する迷走神経の起始細胞である延髄迷走神経背側核の神経細胞を興奮させ, 迷走神経を介して胃分泌を亢進させることや, 胃運動の亢進が重要であると考えられている²⁾⁵⁾⁶⁾¹⁴⁾。一方, ストレス潰瘍においては胃分泌よりもむしろ胃粘膜血流の変化や胃運動の亢進が重要な役割を果たすことが知られている⁸⁾¹⁶⁾。本研究で, bFGFは0.5 μgの用量でTRH潰瘍を抑制したが, 同量では水浸拘束ストレス潰瘍には影響を及ぼさず, bFGFの抗潰瘍作用はTRH潰瘍でより強いことが明らかになった。この差はbFGFが抗潰瘍作用を発現する用量で胃分泌を抑制すること, TRH潰瘍の形成がより胃分泌の亢進に依存することより, 胃分泌抑制効果を反映するためと推定される。しかしながら, 胃運動などの他の因子の関与は除外しきれなかった。そこで, 中枢のbFGFが胃運動機能に関与するか否かを胃排出能より評価した。

本実験では, bFGFの中枢投与は胃排出能を用量依存性に抑制した。しかし, 同量を末梢に投与しても胃排出能に影響を及ぼさなかった。すなわち, bFGFは中枢に作用して胃排出能を抑制することが明らかになった。この成績は中枢のbFGFが胃分泌・胃潰瘍形成を抑制することに加えて, bFGFが中枢性の胃機能調節に重要な役割を果たすことを強く示唆するものである。

流動食の胃排出能は胃内圧と正の相関があることが報告されている⁷⁾。本実験においてbFGFが胃排出を遅延させるとの成績から, bFGFは胃運動を抑制することが強く推定される。従って, bFGFの抗潰瘍作用発現のメカニズムに胃運動の抑制効果が関与する可能性も考えられる。このことは, 抗潰瘍作用発現に必要なbFGFの用量で胃排出を抑制することからも支持されよう。

以上の成績から, bFGFは中枢神経系で neurotransmitter または neuromodulator として胃潰瘍形成に関与するものと考えられる。またこの抗潰瘍作用発現のメカニズムは, 既に我々が報告した胃分泌抑制作用⁹⁾に加えて胃運動抑制作用が関与すると考えられる。

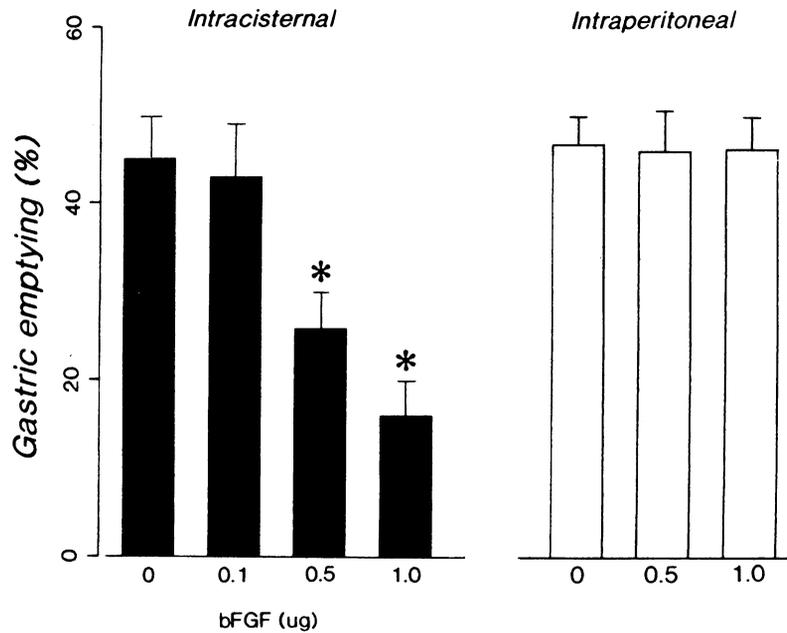


図3 bFGFの胃排出に及ぼす影響。bFGF(0, 0.1, 0.5, 1.0 µg)を24時間絶食させたラットの大槽内または腹腔内に投与し, phenol redを含む試験食を胃内に注入した。注入30分後に胃を取り出し, 胃内に残存している試験食の量をphenol redを指標に測定した。ラットはそれぞれ8~10匹使用した。各値はmean±SEMで表した。*p<0.01。

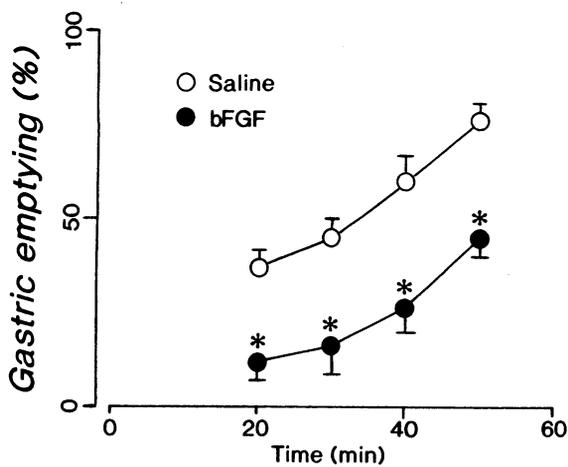


図4 中枢投与bFGFの胃排出遅延作用の経時変化。bFGF(1.0 µg/10 µl)または生理食塩水(10 µl)を大槽内に投与し, 経時的に胃排出能を見た。ラットはそれぞれ8~10匹使用した。各値はmean±SEMで表した。*p<0.01。

本論文の要旨は第44回日本自律神経学会総会(1991年11月, 東京)で発表した。

§ References

1) Baird, A., Mormede, P., Ying, S.Y., Wehrenberg, W.B., Ueno, N., Ling, N. & Guillemin, R.: A

nonmitogenic pituitary function of fibroblast growth factor: Regulation of thyrotropin and prolactin secretion. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82: 5545-5549.

2) Garrick, T., Buack, S., Veisch, A. & Tache, Y.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) acts centrally to stimulate gastric contractility in rats. Life Sci., 40: 649-657.
 3) Gospodarowicz, D. Localization of fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. Nature, 249: 123-127, 1974.
 4) Gospodarowicz, D., Neufeld, G. & Schweigerer, L.: Fibroblast growth factor. Mol. Cell. Endocrinol., 46: 187-204, 1986.
 5) Goto, Y. & Tache, Y.: Gastric erosions induced by intracisternal thyrotropin-releasing hormone (TRH) in rats. Peptides, 6: 153-156, 1985.
 6) Hernandez, D.E. & Emerick, S.G.: Thyrotropin-releasing hormone: Medullary site of action to induce gastric ulcers and stimulate acid secretion. Brain Res., 459: 148-152, 1988.
 7) Minami, H. & McCallum, R.W.: The physiol-

- ogy and pathophysiology of gastric emptying in humans. *Gastroenterology*, 86 : 1592-1610, 1984.
- 8) Murakami, M., Lam, S.K., Inada, M. & Miyake, T.: Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology*, 88 : 660-665, 1985.
- 9) Okumura, T., Uehara, A., Tsuji, K., Taniguchi, Y., Kitamori, S., Shibata, Y., Okamura, K., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Central nervous system action of fibroblast growth factor: Inhibition of gastric acid and pepsin secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 175 : 527-531, 1991.
- 10) Okumura, T., Uehara, A., Kitamori, S., Okamura, K., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Prevention by interleukin-1 of intracisternally injected thyrotropin-releasing hormone (TRH)-induced gastric mucosal lesions in rats. *Neurosci. Lett.*, 125 : 31-33, 1991.
- 11) Okumura, T., Uehara, A., Okamura, K. & Namiki, M.: Site-specific formation of gastric ulcers by the electric stimulation of the left or right gastric branch of the vagus nerve in the rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, 25 : 834-840, 1990.
- 12) Plata-Salaman, C.R.: Food intake suppression by growth factors and platelet peptides by direct action in the central nervous system. *Neurosci. Lett.*, 94 : 161-166, 1988.
- 13) Scarpignato, C., Capovilla, T. & Bertaccini, G.: Action of caerulein on gastric emptying of the conscious rat. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 246 : 286-294, 1980.
- 14) Tache, Y., Vale, W. & Brown, M.: Thyrotropin-releasing hormone "CNS action to stimulate gastric acid secretion. *Nature*, 287 : 1580-1582, 1980.
- 15) Takagi, K., Kasuya, Y. & Watanabe, K.: Studies of the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer. *Chem. Pharm. Bull.*, 12 : 465-472, 1964.
- 16) Yano, S., Akahane, M. & Harada, H.: Role of gastric motility in development of stress-induced gastric lesions of rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, 28 : 607-615, 1978.

Abstract

Central Basic Fibroblast Growth Factor Inhibits Gastric Ulcer Formation and Gastric Emptying in Rats

Toshikatsu Okumura, Akira Uehara, Shigeru Kitamori, Yoshiaki Taniguchi,
Yasuo Watanabe, Kazuyuki Tsuji and Masayoshi Namiki

Department of Internal Medicine (III), Asahikawa Medical College, Asahikawa 078, Japan

We have recently reported that basic fibroblast growth factor (bFGF) acts on the central nervous system to inhibit gastric acid and pepsin secretion in rats. In the present study, we evaluated the central nervous system action of bFGF on experimentally-induced gastric mucosal lesions and gastric emptying. Intracisternally injected bFGF (0.1—1.0 $\mu\text{g}/\text{rat}$) dose-dependently inhibited the severity of gastric mucosal lesions arising as a result of water-immersion restraint stress or intracisternally injected thyrotropin-releasing hormone. The same doses of peripherally injected bFGF failed to protect the gastric mucosa from these ulcerogenic procedures. Next, we examined the effect of bFGF on gastric emptying of a liquid meal in conscious rats using the phenol red method. Intracisternal injection of bFGF (0.1—1.0 μg) dose-dependently inhibited gastric emptying, while intraperitoneal injection of bFGF in the same doses failed to alter gastric emptying. All of these findings suggest for the first time that bFGF acts on the central nervous system, yielding an anti-ulcer effect and a delay in gastric emptying.

(*The Autonomic Nervous System*, 29: 271~275, 1992)