

黄柏抽出物の抗潰瘍効果 - 2 -

上川 浩,^{a)}山本 善一,^{b)}荻田 善一^{b)}^{a)}株式会社広貫堂研究開発部, ^{b)}富山医科薬科大学和漢薬研究所病態生化学部門

Anti-ulcer effect of extract from Phellodendri Cortex - 2 -

Hiroshi KAMIKAWA,^{a)} Yoshikazu YAMAMOTO^{b)} and Zen-ichi OGITA^{b)}^{a)}Research and Development Division, Kokando Co., Ltd.^{b)}Department of Pathogenic-Biochemistry, Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University

(Received November 11, 1992. Accepted May 26, 1993.)

Abstract

In Chinese medicine, Phellodendri Cortex [Phellodendron amurense RUPRECHT] has been used as a stomachic. One of the major known components of this plant is berberine. It has several pharmacological activities such as an anti-cholera toxin effect, an anti-inflammatory effect and a stimulative effect on bile secretion and bilirubin discharge. We have reported that the water-soluble (WS) fraction of the extract from this plant, which does not contain any berberine, has anti-inflammatory and anti-ulcer activities. In this study, we have investigated the possible mechanism of anti-ulcer activity from the viewpoints of gastric mucosal SOD activity and PGE₂ level. The WS fraction prevented the reduction of SOD activity in the gastric mucosa of mice with water-immersion restraint stress. In contrast, the SOD activity in normal mice was not changed by the administration of the WS fraction. The WS fraction prevented the decrease of gastric mucosal PGE₂ level in rats administered with indomethacin, and also increased the PGE₂ level in normal mice. These findings suggest that the suppression of ulcer formation by the WS fraction of the extract from Phellodendri Cortex may be mediated by preventing the reduction of gastric mucosal SOD activity and PGE₂ level.

Key words Phellodendri Cortex, anti-ulcer effect, superoxide dismutase, prostaglandin.**Abbreviations** PG, prostaglandin; Phellodendri Cortex, 黄柏; SOD, superoxide dismutase.

緒 言

黄柏 (Phellodendri Cortex) は古くから苦味健胃薬や整腸薬, 消炎性収斂薬として胃腸炎, 腹痛, 黄疸, 下痢等の症状に用いられ, また打撲傷等に外用薬としても用いられてきた。主成分は黄連と同様 berberine であり, この berberine の薬理作用については, 抗菌作用, 抗コレラ毒素作用, 血圧下降作用, 血糖下降作用, 抗炎症作用, 胆汁分泌及びビリルビン排出促進作用等が知られている¹⁾が, その他の成分の薬理作用についてはあまり明らかにされていない。我々はこの黄柏が, 他の多くの健胃整腸生薬と

異なり, 膵臓由来の消化性プロテアーゼの *in vitro* における活性化反応を抑制することを見出し, この作用が黄柏中の主成分とされる berberine を除いた水溶性分画にあることを明らかにした²⁾。またこの水溶性分画には各種動物モデルを用いた実験により, 強い抗炎症作用³⁾や抗潰瘍作用⁴⁾が認められ, 抗潰瘍作用については, その作用機序の一つとして胃液分泌抑制作用があることを明らかにした。さらにこの分画にはスーパーオキシドスカベンジャー作用 (SOD 様作用) があることも見出している³⁾。

今回, この黄柏水溶性分画の抗潰瘍作用の作用機序を明らかにする目的で, 近年重要視されている防御因子としての superoxide dismutase (SOD),⁵⁾ 胃

*〒930 富山市梅沢町2-9-1
2-9-1 Umezawa-cho, Toyama 930, Japan

粘膜血流⁶⁾及びprostaglandin (PG)⁶⁾に着目し、これらに対する黄柏水溶性分画の影響を検討した。

材料と方法

(1) 黄柏水溶性分画の調製：黄柏をメタノールで繰り返し抽出することによりメタノール可溶性成分(berberine系アルカロイド等)をできるだけ除き、その残渣を50%アセトニトリルで抽出して得られた抽出物を、水とn-ブタノールで分配して水層より黄柏水溶性分画を得た。更にこの水溶性分画について、メタノール可溶部を除いた後、50%メタノールに溶かして可溶部をとり、Sephadex LH-20を用いてゲルろ過を行い、NBTゲル染色法によりSOD様活性を検出し、活性の高いフラクションを得た。

(2) NBTゲル染色法⁷⁾：各フラクションを0.5%アガロースゲル薄層上にあけた穴に10 μ lずつ添加し、ゲル中に試料を浸透させた後、nitro blue tetrazolium 0.1%を含んだ50mMリン酸緩衝液(pH 7.8)中で室温で20分間保温し、その後tetramethylethylenediamine 0.32%及びriboflavin 0.0002%を含んだリン酸緩衝液に置換し、10cmの距離から白色蛍光灯により光を15~40分間照射し、紺色の背景に白く抜ける部分をSOD様活性の高いフラクションとして検出した。

(3) SOD活性測定法：大柳の方法⁸⁾に準じて行った。Xanthine 0.469mM, hydroxylamine hydrochloride 0.625mM及び試料を含んだ0.25mM EDTA-62.5mMリン酸緩衝液(pH 7.8) 0.8mlを37°Cで10分間保温し、次にxanthine oxidase 0.075Uを加え1.0mlとして30分間保温した後、発色液(sulfanilic acid 2.0mM及びnaphthylethylenediamine 20 μ Mを含んだ16.7%酢酸溶液)2.0mlを加え、室温で20分間放置後、540nmにおける吸光度を測定し、SOD活性はO₂⁻の生成を50%阻害する濃度(IC₅₀)として算出した。

(4) マウス拘束水浸ストレス潰瘍：渡辺らの方法⁹⁾に準じて行った。8週令のddY系雄性マウスを24時間絶食後、塩化ビニール製円筒ストレスケージ(内径2.4cm×長さ7cm)に入れ、15°Cの水中に剣状突起まで浸し、ストレスを負荷した。水浸5時間後に胃を摘出、1%ホルマリン溶液1.5mlを胃内に注入し、更に同液中に浸し胃組織を軽く固定した。大弯に沿って切開し、腺胃部に発生した損傷の長さ(mm)を実体顕微鏡下で測定し、一匹当りの総和を潰瘍係数(ulcer index)とした。検体の投与は水浸1時間前に皮下投与とした。

(5) マウス胃粘膜SOD活性測定法：8週令のddY系雄性マウスを24時間絶食後、胃を摘出して大弯に沿って切開、生理食塩水で洗浄し水分をふき取った後胃粘膜をかき取った。これに脱イオン水(1ml/匹)を加えて磨砕した後12,000×gで30分間遠心分離し、上清を試料としてSOD活性を(3)と同様に、また蛋白量をLowry法¹⁰⁾に従って測定した。検体の投与は、30分前に皮下投与または1時間前に経口投与とした。

(6) 拘束水浸ストレス時のマウス胃粘膜SOD活性測定法：(4)と同様にマウスにストレスを負荷し、水浸前、30分後、1時間後、3時間後及び5時間後に胃を摘出、(5)と同様にSOD活性及び蛋白量を測定し、比活性(nitrite units/mg protein)を算出した。検体の投与は水浸1時間前に経口投与とした。

(7) ラット胃粘膜血流測定法：体重200g前後のWistar/ST系雄性ラットを24時間絶食後、ウレタン麻酔(1.8g/kg s.c.)し、開腹後漿膜から胃体部に針型1本電極を刺入、その対側粘膜下に不関電極を留置し、電解式組織血流計(RBF-1型バイオメディカルサイエンス社製)を用いて水素ガスクリアランス法¹¹⁾により血流量を次式により求めた。また電解電流量は10 μ A、電解時間は20secとした。

$$\frac{69.3}{\text{水素の半減時間}} - \text{拡散による見かけの血流量} \quad (\text{ml}/100 \text{ g}/\text{min})$$

検体は前胃部よりカニューレを介して投与し、30分後に測定した。また投与前をコントロール、死後の値を拡散による見かけの血流量とした。

(8) Indomethacin投与時のラット胃粘膜PGE₂測定法：体重200~300gのWistar/ST系雄性ラットを24時間絶食後、indomethacin 25mg/kgを1%CMCに懸濁して経口投与した。1時間後に胃を摘出、荒川らの方法¹²⁾に従い、粘膜を剥離した。すなわち大弯に沿って切開した胃をよく荒い、水分をふき取った後二枚のスライドガラスに挟み込み、ドライアイス-アセトン中で冷却したヘキサン中に浸して瞬間凍結した。この二枚のスライドガラスを強く分離することにより粘膜層を筋層から剥離した。プロスタグランジン類の抽出及び定量はPowellの方法¹³⁾に従って行った。すなわち上記の胃粘膜に内部標準としてthromboxane B₂を0.4 μ g/ml含んだ0.05M Tris-HCl緩衝液(pH 7.4)を5ml加えて磨砕した。磨砕液3mlをとりエタノール3mlを加えて5分間放置した後、水14mlを加えて混和後、400×gで10分間遠心分離した。その上清に1NのHClを加えpH3とした後、あらかじめ15%エタノール

ール (塩酸酸性 pH3) で湿らせた Sep-Pak C₁₈ カートリッジ (Millipore 社製) に吸着させた。これを 15% エタノール, 水, 石油エーテル, 石油エーテル・クロロホルム (65:35) 混液各々 20 ml ずつで順次洗浄し, 最後にギ酸メチル 10 ml でプロスタグランジン類を溶出させた。この溶出液を窒素ガスにて蒸発乾固した後, アセトニトリル 60 μ l に溶解し, そのうち 10 μ l をとり 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により PGE₂ を定量した。(カラム: TSKgel ODS-120A 4.6 mm $\times$ 25 cm, 移動相: リン酸で pH2 とした 40% アセトニトリル, 流速: 1 ml/min, 検出: UV 192 nm, カラム温度: 40°C) また検体は indomethacin 投与の 30 分前に経口投与した。

(9) 高速水浸ストレス時のマウス胃粘膜 PGE₂ 測定法: (3)と同様にマウスにストレスを負荷し, 水浸前, 30 分後, 1 時間後, 3 時間後及び 5 時間後に胃を摘出, (8)と同様に PGE₂ を定量した。またこの場合はマウス 3 匹分の胃粘膜を 1 つの試料とした。検体は水浸 1 時間前に経口投与した。

(10) 統計学的処理: 有意差の検定は, Student の t 検定または Cochran-cox 検定により行った。

結 果

1. 拘束水浸ストレス胃潰瘍に及ぼす黄柏水溶性分画とその高 SOD 様活性フラクションの影響

黄柏水溶性分画を SOD 活性を指標として分画することにより, SOD 様活性が IC₅₀ で 6.1 μ g/ml であるフラクションが得られ, このフラクションの SOD 様活性 (IC₅₀) は水溶性分画 (48.0 μ g/ml) よりも約 8 倍高かった。そこで, 水溶性分画とその高 SOD 様活性フラクションの, マウス拘束水浸ストレス胃潰瘍に対する効果を比較検討した。両者をそれぞれ水浸 1 時間前にマウスに皮下投与 (100 mg/kg) すると, 水溶性分画が強い抗潰瘍作用を示したのに対し, この高 SOD 様活性フラクションにはほとんど作用がみられなかった。(Table I)

Table I Comparison of anti-ulcer effect between Phellodendri Cortex and its separated fraction with a high SOD-like activity.

Treatment	Route	Dose (mg/kg)	n	Ulcer index (mean $\pm$ S.E.)	Inhibition (%)
Control (H ₂ O)	s.c.		8	31.1 $\pm$ 3.3	
Phellodendri Cortex (H ₂ O layer)	s.c.	100	6	3.6 $\pm$ 2.3**	88.3
Fraction with a high SOD-like activity	s.c.	100	8	27.9 $\pm$ 3.0	10.3
Control#	p.o.		10	32.7 $\pm$ 3.8	
Phellodendri Cortex#	p.o.	100	11	27.8 $\pm$ 4.1	11.9
	p.o.	1000	10	24.8 $\pm$ 4.9*	28.2

Each value represents a mean $\pm$ S.E.. Significantly different from control at

* p <0.05, ** p <0.01.

#; cited from reference 4.

Table II Effect of Phellodendri Cortex extract on gastric mucosal SOD activity.

Treatment	Route	Dose (mg/kg)	n	IC ₅₀ (μ g protein/ml)
Control (saline)	s.c.		8	95.6 $\pm$ 7.5
Phellodendri Cortex (H ₂ O layer)	s.c.	100	8	90.2 $\pm$ 12.5
	s.c.	200	8	97.2 $\pm$ 15.3
Control (H ₂ O)	p.o.		6	145.5 $\pm$ 35.3
Phellodendri Cortex (H ₂ O layer)	p.o.	500	8	155.2 $\pm$ 31.4
	p.o.	1000	8	160.3 $\pm$ 34.2

Each value represents a mean $\pm$ S.E..

Table III Effect of Phellodendri Cortex extract on gastric mucosal blood flow in rat.

Treatment	Route	Dose (mg/kg)	n	Blood Flow (ml/min/100 g)
Control (before administration)			12	30.9±3.1
Phellodendri Cortex (H ₂ O layer)	<i>p.o.</i>	1000	12	31.2±3.7

Each value represents a mean±S.E..

Table IV Effect of Phellodendri Cortex extract on gastric mucosal PGE₂ levels after administration of indomethacin.

Treatment	Route	Dose (mg/kg)	n	PGE ₂ (ng/g tissue)
Control (H ₂ O)	<i>p.o.</i>		8	108.0±16.6
Indomethacin	<i>p.o.</i>	25	8	27.3± 6.4
Phellodendri Cortex (H ₂ O layer)	<i>p.o.</i>	100	8	47.3± 7.1
+indomethacin	<i>p.o.</i>	1000	8	73.5±12.4**

Each value represents a mean±S.E.. Significantly different from indomethacin group at ***p*<0.01.

2. 胃粘膜 SOD 活性に及ぼす黄柏水溶性分画の影響

正常マウスに黄柏水溶性分画を皮下投与 (100 または 200 mg/kg) 及び経口投与 (500 または 1000 mg/kg) した場合のいずれにおいても、内因性胃粘膜 SOD 活性値には変化はみられなかった。(Table II)

3. 胃粘膜血流に及ぼす黄柏水溶性分画の影響

黄柏水溶性分画 1000 mg/kg を胃内投与した正常ラットでは、投与前と投与 30 分後において胃粘膜血流量に変化はみられなかった。(Table III)

4. 拘束水浸ストレス時の胃粘膜 SOD 活性の変化に及ぼす黄柏水溶性分画の影響

コントロール群では水浸後 30 分で胃粘膜の SOD 活性値は急激に減少し、その後も徐々に減少していくという現象がみられた。この減少は黄柏水溶性分画 1000 mg/kg の経口投与により水浸 30 分後及び 3 時間後において有意に抑制された。(Fig. 1)

5. Indomethacin 投与時の胃粘膜 PGE₂ 量に及ぼす黄柏水溶性分画の影響

Indomethacin 投与により胃粘膜 PGE₂ 量は大きく減少した。この減少は黄柏水溶性分画 100 または 1000 mg/kg の経口投与により抑制され、この抑制効果は用量依存的であった。(Table IV)

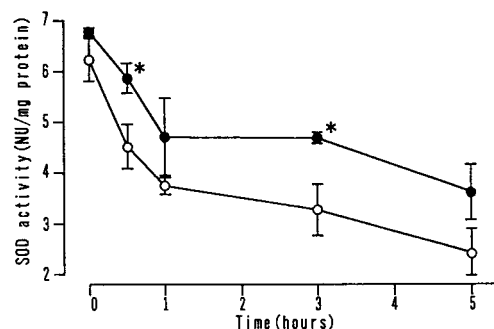


Fig. 1 Effect of Phellodendri Cortex extract on gastric mucosal SOD activity during restrained and water-immersed stress. Each point represents a mean±S.E. of 5 determinations. ○: control, ●: Phellodendri cortex (1000 mg/kg *p.o.*). Significantly different from control at **p*<0.05.

6. 拘束水浸ストレス時の胃粘膜 PGE₂ 量の変化に及ぼす黄柏水溶性分画の影響

コントロール群では水浸後 30 分で一過性の急激な胃粘膜 PGE₂ 量の減少がみられ、1 時間後にやや増加し、その後再び徐々に減少した。黄柏水溶性分画 1000 mg/kg の経口投与により、水浸前の胃粘膜 PGE₂ 量は有意に増加した。(Fig. 2)

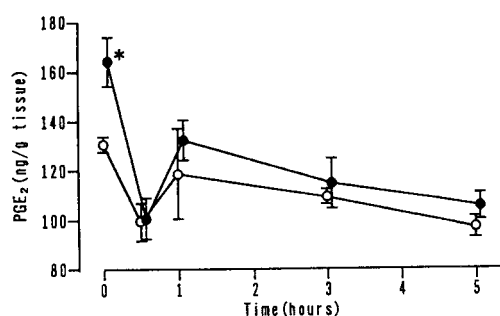


Fig. 2 Effect of Phellodendri Cortex extract on gastric mucosal PGE₂ levels during restrained and water-immersed stress. Each point represents a mean $\pm$ S.E. of 5 determinations. $\circ$: control, $\bullet$: Phellodendri Cortex (1000 mg/kg p.o.). Significantly different from control at * $p < 0.05$.

考 察

胃潰瘍発生の原因の一つとして、近年スーパーオキシドの関与が示唆されている⁵⁾。スーパーオキシドの発生機序の一つとして虚血再灌流モデル¹⁴⁾がある。すなわち、低温ストレス下で胃粘膜血流が減少すると一種の虚血状態となり、組織中の AMP が増加、その代謝物である hypoxanthine が生ずる。同時に xanthine dehydrogenase が xanthine oxidase に変換され、これらと再灌流で運ばれてきた酸素との反応によりスーパーオキシドが発生すると考えられている。またもう一つの機序として、微小循環障害によって好中球から NADPH oxidase 系を介してスーパーオキシドが発生する機構¹⁵⁾も考えられている。これら虚血状態によって発生したスーパーオキシドは、細胞膜のリン脂質を酸化してその膜を破壊する¹⁶⁾こと、あるいは上皮の基底膜の hyaluronic acid を変性させ組織障害をおこす¹⁷⁾ことにより潰瘍の形成が引き起こされるとされている。我々は黄柏水溶性分画中に SOD 様活性を見いだした³⁾ことから、この SOD 様活性成分を更に分画精製し、その拘束水浸ストレス胃潰瘍に及ぼす影響を検討した。しかしこの高 SOD 様活性フラクションには抗潰瘍作用がみられなかったことから、黄柏水溶性分画の SOD 様活性は抗潰瘍作用の直接的要因ではないことが明らかとなった。次に黄柏水溶性分画が、内因性胃粘膜 SOD 活性を上昇させ、または胃粘膜血流量の変化を介してスーパーオキシドの発生自体を抑制して抗潰瘍作用を示す可能性が考えられたが、正常な状態での胃粘膜 SOD 活性や胃

粘膜血流量を積極的に上げる作用はないことが明らかとなった。そこで、生体のバランスが崩れた状態の病態モデルにおいてそれらに対する黄柏水溶性分画の作用を検討した。マウスにおける拘束水浸ストレス負荷による胃粘膜 SOD 活性の変動を検討したところ、水浸 30 分後に胃粘膜 SOD 活性が大きく低下し、その後も経時的に減少していくという現象が観察された。ラットにおいては、拘束水浸ストレス負荷により 3 時間までは胃粘膜 SOD 活性が上昇すること¹⁸⁾や、脱血によりその 20 分後に胃粘膜 SOD 活性が上昇すること¹⁹⁾が報告されている。今回のマウスを用いた実験系はこれらに比べかなり過酷な条件であることから、ストレス負荷直後に多量のスーパーオキシドが発生し、SOD によるその消去の結果産生された H₂O₂ によって SOD 活性の不活性化が引き起こされ²⁰⁾、胃粘膜 SOD 活性が減少する可能性が考えられた。この拘束水浸ストレス負荷マウスにおける胃粘膜 SOD 活性の低下が黄柏水溶性分画の投与により抑制されることが明らかとなった。

最近、胃粘膜の攻撃因子に対する抵抗性物質としての prostaglandin が注目されている⁶⁾。この胃粘膜の攻撃因子に対して抵抗性を示す作用は胃粘膜保護作用 (cytoprotection) と呼ばれ、その作用は prostaglandin の中でも PGE₂ が強いとされている²¹⁾。ラットの拘束水浸ストレスでは、ストレス初期に胃粘膜 PGE₂ 量の増加がみられ、胃潰瘍の発生の観察される時間になると減少する²²⁾ことが報告されている。そこでマウスにおける拘束水浸ストレス負荷による胃粘膜 PGE₂ 量の変動を検討したところ、水浸 30 分後に既に胃粘膜 PGE₂ 量の急激な減少がみられ、水浸 1 時間後にいったん上昇し、その後再び減少するという結果が得られた。この違いはラットでの報告が水温 23°C であることから、今回のマウスの実験系では水温が 15°C という厳しい条件下において、最初生体が適応できなかったからではないかと考えられる。黄柏水溶性分画はエタノール潰瘍に対して強い抑制作用を示す³⁾ことから、胃粘膜保護作用をもつと考えられる。今回黄柏水溶性分画を投与することにより、ストレス負荷前、つまり正常マウスの胃粘膜 PGE₂ 量を増加させることが明らかとなった。この胃粘膜 PGE₂ 量の増加がどのような機序に基づくものであるかは今後の詳細な検討を必要とするが、このことから黄柏水溶性分画が内因性胃粘膜 PGE₂ を介して胃粘膜保護作用を示すことが強く示唆された。また黄柏水溶性分画は indomethacin 投与時の胃粘膜 PGE₂ 量の減少を抑制したが、これは黄柏水溶性分画の前投与により胃粘膜 PGE₂ が

増加し、その後で indomethacin 投与により PGE_2 の産生を阻害しても、最初に増加した PGE_2 の分だけ indomethacin 単独投与群と比べて胃粘膜 PGE_2 量が多いと考えれば理解できる。先の黄柏水溶性分画の拘束水浸ストレスによる胃粘膜 SOD 活性の減少抑制作用も、その前投与により胃粘膜 PGE_2 量が増加し、その結果胃粘膜血流を増加させ、虚血状態を改善し、superoxide が産生されにくくなり、SOD が不活性化されなかったと考えれば説明できる。また、拘束水浸ストレス負荷ラットで胃粘膜血流量が低下することが報告されている²³⁾ことから、今回はその測定を行わなかったため、今後黄柏水溶性分画投与によりこの血流量の減少が抑制されるかどうかについて検討する必要がある。

また superoxide の産生により胃粘膜 PGE_2 量が減少し⁶⁾、SOD の投与で胃粘膜 PGE_2 量が増加する²⁴⁾との報告もある。さらに SOD と PGE_2 が、ラットの胃粘膜においていずれも壁細胞に局在する^{25, 26)}ことが報告されている。壁細胞は、酸を分泌する細胞として知られており、黄柏水溶性分画が胃液分泌抑制作用を持つ⁴⁾ことから、このことは大変興味深い。いずれにしても黄柏水溶性分画が胃粘膜 SOD または胃粘膜 PGE_2 に対して影響を及ぼしていることが明らかになったことにより、黄柏水溶性分画の抗潰瘍作用の作用機序解明の一つの手がかりが得られたと考えられる。

結 論

黄柏水溶性分画は正常な状態のマウス胃粘膜 SOD 活性やラット胃粘膜血流量には影響を及ぼさないが、水浸拘束ストレス時のマウス胃粘膜 SOD 活性の減少や indomethacin 投与時のラット胃粘膜 PGE_2 量の減少を抑制し、さらに正常マウスの胃粘膜 PGE_2 量を増加させることが明かとなった。このことから黄柏水溶性分画の抗潰瘍作用には胃粘膜 SOD 及び prostaglandin E_2 を介した機序が大きく関与していると考えられる。

文 献

- 鈴木郁生, 井上哲男, 福田英臣: 第十二改正日本薬局方解説書 (日本公定書協会監修), 廣川書店, 東京, pp.D-118 ~D-124, 1991.
- Uchiyama, T., Kamikawa, H. and Ogita, Z.: Effects of gastrointestinal Kampo-hozal and herbs on the in vitro activating reaction of the murine pancreatic zymogens. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* 6, 201-208, 1989.
- 内山 務, 上川 浩, 荻田善一: 黄柏抽出物の抗炎症効果. 和漢医薬学会誌 6, 158-164, 1989.
- 内山 務, 上川 浩, 荻田善一: 黄柏抽出物の抗潰瘍効果. 薬学雑誌 109, 672-676, 1989.
- 荻野景規, 岡 紳爾, 松田和也, 松浦伸二郎, 由村俊二, 坂井田功, 岡崎幸紀, 竹本忠良: ラット胃粘膜障害における superoxide dismutase に関する研究 (第 1 報) - 阻害剤ジエチルジチオカルバメートの影響について -, 日消誌 84, 205-209, 1987.
- 小林絢三, 荒川哲男: 胃炎・胃潰瘍の成因にかかわる調節因子. 臨床科学 26, 72-79, 1990.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I.: Superoxide Dismutase. Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287, 1971.
- Oyanagui, Y.: Reevaluation of Assay Methods and Establishment of Kit for Superoxide Dismutase Activity. *Anal. Biochem.* 142, 290-296, 1984.
- 渡辺和夫, 渡辺裕司, 五島義明: 実験胃潰瘍に対する和漢薬処方の効果. 和漢薬シンポジウム 9, 51-57, 1975.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275, 1951.
- Koshu, K., Kamiyama, K., Oka, N., Endo, S., Takaku, A. and Saito, T.: Measurement of Regional Blood Flow Using Hydrogen Gas Generated by Electrolysis. *Stroke* 13, 483-487, 1982.
- 荒川哲男, 中村 肇, 蝶野慎治, 山田博明, 小林絢三: ラット胃粘膜 prostaglandin E_2 に関する研究 (第 1 報) - 測定法の確立と非ステロイド系抗炎症剤による影響について -, 日消誌 77, 1052-1059, 1980.
- Powell, S.W.: Rapid Extraction of Arachidonic Acid Metabolites from Biological Samples Using Octadecylsilyl Silica. *Methods of enzymology* 86, 469-477, 1982.
- Granger, D.M., McCORD, J.M., Parks, D.A., et al.: Xanthine oxidase inhibitors attenuate ischemia-induced vascular permeability changes in the cat intestine. *Gastroenterology* 90, 80-84, 1986.
- 鈴木雅之, 末松 誠, 三浦総一郎, 永田博司, 森下鉄夫, 織田正也, 土屋雅春: 急性胃粘膜病変形成時の活性酸素産生における xanthine oxidase 系および好中球の役割. 日消誌 85, 835-842, 1988.
- Fridovich, I.: The biology of oxygen radicals. The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity; superoxide dismutases provide an important defense. *Science* 201, 875-880, 1978.
- McCORD, J.M.: Free radicals and inflammation; Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 185, 529-531, 1974.
- 北村賢文, 山岸茂樹, 荒川 明, 岸 克彦, 度会京子, 伊藤 園, 篠原力雄: 胃粘膜病変における粘膜内 SOD 活性の変動. 臨床病理 37, 988-993, 1989.
- 岩井 彰, 伊藤 誠, 横山善文, 安江直二, 今井新平, 城卓志, 松佐古敏, 遠藤一夫, 川合 孝, 松葉周三, 加藤直也, 竹内俊彦: 脱血・再輸血ラットにおける胃粘膜内 SOD 活性の動態. 日消誌 87, 1809-1814, 1990.

- 20) Hodgson, E.K. and Fridovich, I.: The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: Inactivation of the enzyme. *Biochemistry* **14**, 5294-5298, 1975.
- 21) Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C. and Hanchar, A.J.: Cytoprotection by prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* **77**, 433-443, 1979.
- 22) 荒川哲男, 中村 肇, 小林絢三: ラット胃粘膜 prostaglandin E_2 に関する研究 (第2報) - ストレスによる影響 -. 日消誌 **77**, 1711-1715, 1980.
- 23) 工藤 猛: Stress 潰瘍発生における胃粘膜下血流量におよぼす自律神経ならびに catecholamines の影響に関する実験的研究. 日消誌 **81**, 987-995, 1984.
- 24) 荻野景規, 岡 紳爾, 松浦伸二郎, 坂井田 功, 由村俊二, 松田和也, 佐々木俊行, 山本一成, 岡崎幸紀, 竹本忠良: ラット胃粘膜障害における superoxide dismutase に関する研究 (第2報) - インドメタシン潰瘍について -. 日消誌 **84**, 1389-1393, 1987.
- 25) 樋口和秀, 松本誉之, 荒川哲男, 北野厚生, 名倉 宏, 小林絢三: ラット胃粘膜における Prostaglandin E_2 の細胞局在に関する免疫組織化学的検討. 日消誌 **85**, 1082-1087, 1988.
- 26) 荻野景規, 岡 紳爾, 松浦伸二郎, 松田和也, 由村俊二, 佐々木俊行, 坂井田 功, 山本一成, 岡崎幸紀, 竹本忠良, 宇田泰三: ヒト胃粘膜における Cu, Zn-SOD の局在 - モノクローナル抗体を用いて -. 日消誌 **84**, 312, 1987.