

# Changes in Mucosal Glycoprotein at Ischemia and Reperfusion of the Small Intestine

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8560">http://hdl.handle.net/2297/8560</a>

## 温阻血時の小腸組織内糖蛋白組成の変化に関する実験的研究

金沢大学医学部外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

富 田 寛

小腸温阻血における小腸粘液と粘膜の糖蛋白組成の変化と粘膜障害の軽減を目的としたプロスタグランディン  $E_1$  (prostaglandin  $E_1$ ,  $PGE_1$ ) 投与による変化を検討する目的にて, 小腸温阻血再灌流後の小腸粘膜組織内のグルコサミン, ガラクトサミン, シアル酸, ATP, cAMP の経時的变化と,  $1.0\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  の速度で30分間経静脈的に投与した  $PGE_1$  の効果を検討した. 実験動物はイヌを用い, 上腸間膜動, 静脈を残して小腸間膜を切離し, 小腸の口側と肛門側を結紮切離して, 無作為に対照群, 阻血群と  $PGE_1$  投与群の3群に分けた. 阻血群では上腸間膜動, 静脈を血管鉗子で遮断し, 1時間後に遮断を解除し再灌流とした.  $PGE_1$  投与群では, 血流再開直後より  $PGE_1$  を  $1.0\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  の速度で30分間経静脈的に投与した. 各群において, 阻血開始前, 再灌流後経時的に空腸粘膜上皮を採取しグルコサミン, ガラクトサミン, シアル酸, ATP, cAMP を測定した. 小腸の温阻血と再灌流により粘膜組織中のガラクトサミンとシアル酸は対照群前値  $11.3$  (mg/乾燥重量/mg 蛋白),  $1.5$  (mg/乾燥重量/mg 蛋白) に対してそれぞれ  $8.5$ ,  $1.1$  と有意に減少した. グルコサミンは阻血前後による有意差はなかったが,  $PGE_1$  投与により阻血群  $10.9$  (mg/乾燥重量/mg 蛋白) に対し  $14$  と有意に増加した. 小腸粘膜組織中の ATP と cAMP は阻血再灌流により対照群前値  $8.0$  ( $\mu\text{g}/\text{乾燥重量}/\text{mg}$  蛋白),  $490$  (pmol/乾燥重量) に対し, それぞれ  $2.2$ ,  $377$  と有意に減少し, 門脈血中エンドトキシンは対照群前値  $5.3$  (pg/ml) に対し,  $14.3$  と有意に増加した. しかし,  $PGE_1$  投与により小腸粘膜組織中の ATP と cAMP は  $9.7$ ,  $597$  と対照群に対し有意に増加し, エンドトキシンは  $6.7$  と有意に減少した. したがって, 小腸の温阻血と再灌流による粘膜障害として粘液と粘膜を構成する糖蛋白量は減少したが,  $PGE_1$  の投与は ATP と cAMP を増加させて糖蛋白の生合成を促進させることにより粘膜障害を軽減したと考えられた.

**Key words** 小腸温阻血, 粘液糖蛋白, prostaglandin  $E_1$ , cytoprotection

小腸の機能の主たるものはその吸収能にあることは言をまたない. しかしこれを保持する上で, 腸内細菌の進入や種々の化学的または物理的刺激に対する粘膜上皮の防御機能は重要である. ところで, 複合糖質は生体内に広く分布し種々の重要な機能を担っている. これらは細胞膜構成成分の一つであり, 細胞間の相互作用や, それらをとりまく環境因子に対して, 種々の生物機能を発現する事が知られている. その中でも糖蛋白は免疫グロブリン<sup>1)</sup> や蛋白分解阻害物質の構成要素として腸管粘膜の防御機構に関与している<sup>2-5)</sup>. 胃粘液, 粘膜に存在する糖蛋白は, 胃潰瘍においては Hollander<sup>27)</sup> が提唱した粘膜抵抗の概念を代表する一連の防御機構に関する研究から, 防御因子の一つとして重要視されている. 一方, 血管の閉塞性病変やショック等の循環不全によって小腸は温阻血に陥る. 小腸組織のうち粘膜上皮は阻血時に最も高度に障害をうけるが<sup>6)</sup>, 温阻血時の小腸粘液と粘膜の糖蛋白組成の変化については明かではない.

一方, プロスタグランディン (prostaglandin, PG) は消化管を含む多くの組織において同定されている長鎖不飽和脂肪酸である. 強力な酸分泌抑制及び抗潰瘍作用については早くから注目されており Robert ら<sup>10)</sup> はその PG の作用を細胞保護効果 (cytoprotection) と呼んでいるが, 温阻血時の小腸粘液と粘膜の糖蛋白組成の変化および粘液分泌動態に関して PG の関与は明かでない.

本研究では, 小腸阻血前後の粘膜糖蛋白組成の経時的变化と, 温阻血による粘膜障害の軽減を目的としたプロスタグランディン  $E_1$  (prostaglandin  $E_1$ ,  $PGE_1$ ) 投与による変化を検討した.

## 対象および方法

## I. 実験動物と試料採取

体重  $10\text{kg}$  前後の雑種成熟イヌ15頭を24時間絶食の後, 全身麻酔下に開腹した. 上腸間膜動脈と上腸間膜静脈を残して小腸間膜を切離し, 小腸の口側と肛門側を結紮切離して, 無作為に対照群, 阻血群と  $PGE_1$  投与群の3群に分けた. 阻血群では上腸間膜動脈と上腸間膜静脈を血管鉗子で遮断し, 1時間後に血管鉗子による遮断を解除して血流を再開させ再灌流とした.  $PGE_1$  投与群では血流再開直後より  $PGE_1$  を  $1.0\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  の速度で30分間経静脈的に投与した. 阻血開始前, 再灌流後15, 30, 60, 90, 120分に空腸粘膜上皮を採取し, 再灌流後30分に門脈血を採血した (図1).

## II. 試料の保存と前処理

各群ともすみやかに空腸  $1\text{cm}$  を取り出し, 測定用空腸と組織検索用空腸に分けた. 測定用空腸より凍結下粘膜剥離法<sup>7)</sup> にて粘膜を採取し, グルコサミン, ガラクトサミン, シアル酸, ATP, cAMP 測定時まで  $-80^\circ\text{C}$  で乾燥凍結保存した.

平成5年12月15日受付, 平成6年5月18日受理

Abbreviations: HE, hematoxylin-eosin;  $PGE_1$  prostaglandin  $E_1$ ; PAS, periodic acid Schiff

### Ⅲ. 粘膜組織内の糖蛋白, ATP の測定

凍結乾燥した試料約 1mg を 0.1M 磷酸緩衝液 (pH6.7) 0.2ml に溶解し, 濃塩酸 0.2ml を加え, 100°C で 4 時間加熱した. そのうちの 0.1ml を蒸留し, EtOH, トリエチルアミン, フェニールチオンアン酸塩 100 $\mu$ l を加え室温にて 20 分反応させた後, メタノール 1ml を加え蒸留した. これを 1M 酢酸緩衝液 (pH5) 0.4ml に溶解し 3,000rpm で 5 分間遠心分離を行い, 得た上清より高速液体クロマトグラフ LC-6A (島津製作所, 東京) にてグルコサミンとガラクトサミンを測定した. また, 凍結乾燥した試料約 2mg に 25mM 硫酸 0.5ml を加え, 75°C で 1 時間加熱し, 加水分解を行った. この 0.1ml に, 0.5M 塩化アンモニウム 0.1ml, 10mM の 4'ジアミン-2-ステイルパミン 0.1ml を加え 85°C にて 15 分間遮光加熱し, 氷冷の後 1% のトリエチルアミン (pH2.3) に溶解し, 高速液体クロマトグラフにてシアル酸を測定した. さらに, 試料約 1mg に 80% メタノール 1ml をくわえホモジネートし, 3,000rpm で 15 分間遠心分離を行い, 得られた上清に 0.01M 磷酸緩衝液 (pH6.0) を加えて高速液体クロマトグラフにて ATP を測定した. また, 粘膜組織内糖蛋白, ATP の抽出の際得られた沈殿を用いて, Lowry 法<sup>9)</sup>にて蛋白定量を行い, 粘膜組織内糖蛋白, ATP 量を蛋白 1mg あたりの値として算出した.

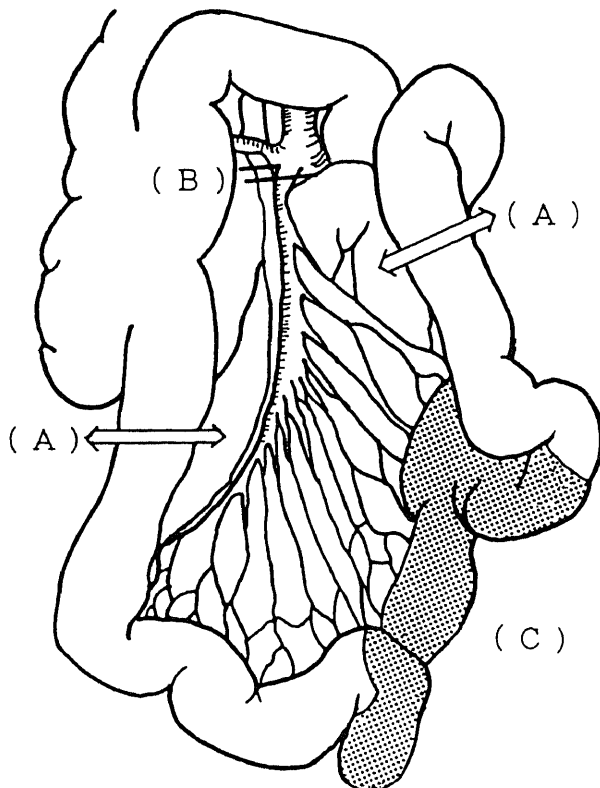


Fig. 1. Schema of the experimental model. (A) The whole small intestine, ranging from the ligament of Treitz to the ileal end, was isolated but the superior mesenteric artery and vein were preserved. (B) Superior mesenteric artery and superior mesenteric vein are clamped by a vascular forceps for 1 hour. (C) A small part of jejunum is taken off at untreated period (PRE), 15, 30, 60, 90 and 120 min. after re-circulation of blood.

### Ⅳ. 粘膜組織内の cAMP 測定

cAMP Assay Kit (ヤマサ醤油, 東京) を用いてラジオイムノアッセイ (radio immuno assay, RIA) 法により測定した<sup>9)</sup>.

### Ⅴ. 門脈血中エンドトキシンの測定

トキシカラーテスト (生化学工業, 東京) を用いて測定した<sup>10)</sup>.

### Ⅵ. 小腸粘膜組織学的検索

全小腸粘膜組織を摘出しヘマトキシリンエオジン染色 (hematoxylin-eosin, HE), パス染色 (periodic acid Schiff, PAS) を施し組織学的変化を検討した.

### Ⅶ. 統計学的検定法

測定値はすべて平均値 $\pm$ 標準偏差 (mean $\pm$ standard deviation) で示した. 平均値の差の比較には Student-t 検定を用い, 危険率 5% 未満をもって有意とした.

## 成 績

### Ⅰ. 空腸粘膜組織中のグルコサミンの変化

対照群の前値 11.7 $\pm$ 2.6 (mg/乾燥重量/mg 蛋白) に対して, 阻血群では, 阻血解除 15 分後に 10.9 $\pm$ 2.0, 60 分後に 9.3 $\pm$ 1.1, 90 分後では 10.5 $\pm$ 2.0 と軽度低下を示したが, 対照群との間に有意差を認めなかった. しかし, 阻血解除後 120 分では, 対照群

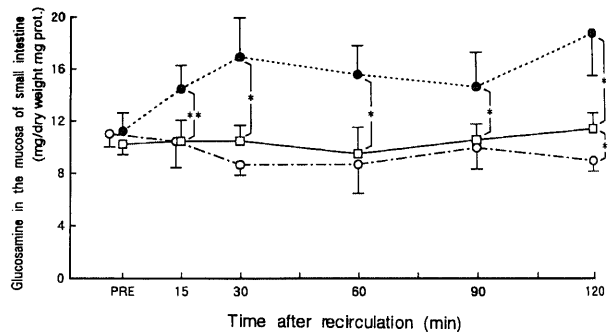


Fig. 2. Changes in mucosal levels of glucosamine of small intestine following ischemia and recirculation. Each point represents the mean $\pm$ SD.  $\square$ , control group;  $\circ$ , ischemia group;  $\bullet$ , prostaglandin $E_1$  (PGE $_1$ ) group. \* P<0.01 \*\* P<0.05.

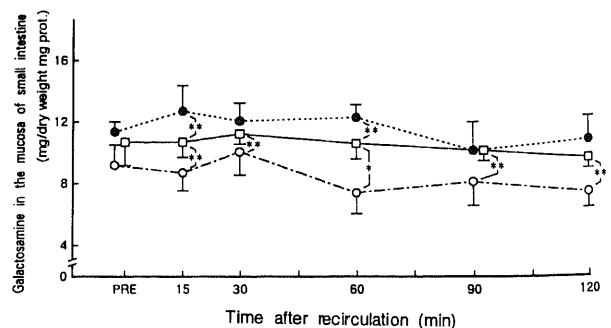


Fig. 3. Changes in mucosal levels of galactosamine of small intestine following ischemia and recirculation. Each point represents the mean $\pm$ SD.  $\square$ , control group;  $\circ$ , ischemia group;  $\bullet$ , PGE $_1$  group. \* P<0.01, \*\* P<0.05.

の  $11.0 \pm 0.7$  に対し、阻血群では  $8.3 \pm 2.3$  と有意に低下した。PGE<sub>1</sub> 投与群では阻血解除15分後に  $14.0 \pm 2.4$  と、他の2群より有意な上昇を認めた。さらに、対照群の120分後の  $11.0 \pm 0.7$  ならびに阻血群の120分後の  $8.3 \pm 2.3$  に対して PGE<sub>1</sub> 投与群では  $18.4 \pm 4.0$  と有意に高値であった (図2)。

II. 空腸粘膜組織中のガラクトサミンの変化

対照群の前値  $11.3 \pm 3.5$  (mg/乾燥重量/mg 蛋白) に対し、阻血群では阻血解除15分後に  $8.5 \pm 2.0$  と有意に低下した。以後、阻血群の60分後では  $7.3 \pm 1.1$ 、120分後では  $7.5 \pm 1.7$  と、対照群の60分後の  $10.8 \pm 1.1$ 、120分後の  $10.1 \pm 0.6$  に対して有意に低値であった。PGE<sub>1</sub> 投与群では阻血解除15分後に  $12.7 \pm 2.1$  と、対照群と、阻血群より有意に上昇した。その後、60分値には  $12.3 \pm 0.6$ 、120分値には  $10.9 \pm 1.1$  と阻血群より有意に高値を示した (図3)。

III. 空腸粘膜組織中のシアル酸の変化

対照群の前値  $1.5 \pm 0.3$  (mg/乾燥重量/mg 蛋白)、30分値  $1.7 \pm 0.4$  に対し、阻血群では阻血解除15分後に  $1.3 \pm 0.3$ 、30分後に  $1.2 \pm 0.5$  と有意差を認めなかったが、対照群の60分値  $1.8 \pm 0.2$ 、90分値  $1.8 \pm 0.6$  に対し、阻血群では60分後に  $1.2 \pm 0.3$ 、90分後に  $1.1 \pm 0.1$  と有意に低下した。PGE<sub>1</sub> 投与群では阻血解除15分後より上昇し、30分に  $2.8 \pm 0.6$  と、対照群より有意に高かった (図4)。

IV. 空腸粘膜組織中の ATP の変化

対照群の前値  $8.0 \pm 0.6$  ( $\mu$ g/乾燥重量/mg 蛋白) に対し、阻血

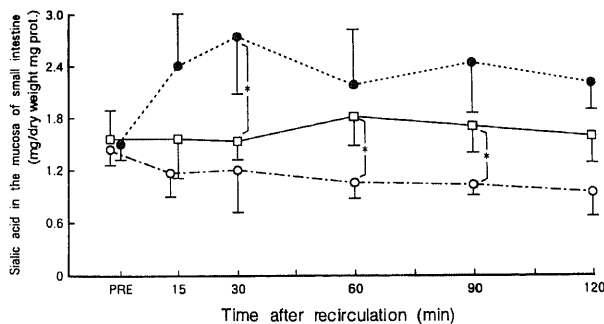


Fig. 4. Changes in mucosal levels of sialic acid of small intestine following ischemia and recirculation. Each point represents the mean  $\pm$  SD. □, control group; ○, ischemia group; ●, PGE<sub>1</sub> group. \* P < 0.05.

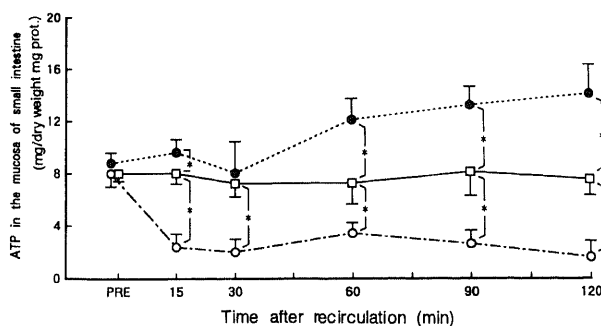


Fig. 5. Changes in mucosal levels of ATP of small intestine following ischemia and recirculation. Each point represents the mean  $\pm$  SD. □, control group; ○, ischemia group; ●, PGE<sub>1</sub> group. \* P < 0.01, \*\* P < 0.05.

群では阻血解除15分後で  $2.2 \pm 1.2$ 、30分後では  $1.9 \pm 0.6$ 、60分後では  $2.9 \pm 1.4$ 、120分後では  $1.8 \pm 1.2$  と有意に減少した。PGE<sub>1</sub> 投与群では阻血解除15分後に  $9.7 \pm 1.7$  と対照群と阻血群に対し有意に増加した。PGE<sub>1</sub> 投与終了直後の30分値では、PGE<sub>1</sub> 投与群では  $8.3 \pm 2.5$ 、阻血群では  $1.9 \pm 0.6$ 、対照群では  $7.6 \pm 0.4$  と、対照群との間には有意差を認めなかったが、阻血群よりは有意に高値を示した。その後、PGE<sub>1</sub> 投与群では、PGE<sub>1</sub> 投与終了後の60分で  $11.8 \pm 1.5$ 、90分で  $11.9 \pm 2.4$ 、120分で  $12.4 \pm 2.5$  と、対照群に比べて有意に増加した (図5)。

V. 空腸粘膜組織中の cAMP の変化

対照群の前値  $490 \pm 17$  (pmol/乾燥重量) に対し、阻血群では阻血解除後15分に  $377 \pm 66$ 、30分に  $387 \pm 9$ 、60分に  $437 \pm 47$ 、120分に  $393 \pm 47$  と有意に減少した。PGE<sub>1</sub> 投与群では、対照群の30分値  $497 \pm 35$  に対して、 $597 \pm 37$  と有意に増加し、以後も対照群より有意に高い値を示した (図6)。

VI. 門脈血中エンドトキシンの変化

対照群の  $5.3 \pm 0.7$  (pg/ml) に対し阻血群では  $14.3 \pm 3.2$  と有意に増加した。一方、PGE<sub>1</sub> 投与群では  $6.7 \pm 0.9$  と阻血群に対し有意に減少した (図7)。

VII. 組織学的変化

対照群の小腸粘膜組織では、杯細胞が豊富で中性糖蛋白がPAS陽性に認められた。阻血群では杯細胞も疎らで、中性糖蛋

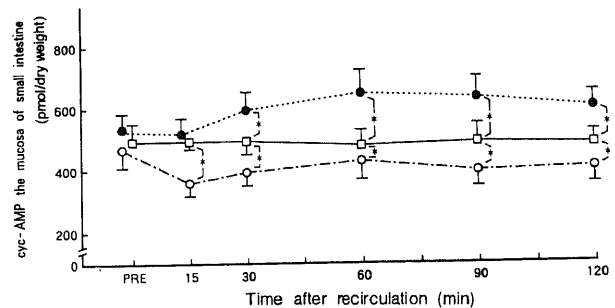


Fig. 6. Changes in mucosal levels of cAMP of small intestine following ischemia and recirculation. Each point represents the mean  $\pm$  SD. □, control group; ○, ischemia group; ●, PGE<sub>1</sub> group. \* P < 0.01, \*\* P < 0.05.

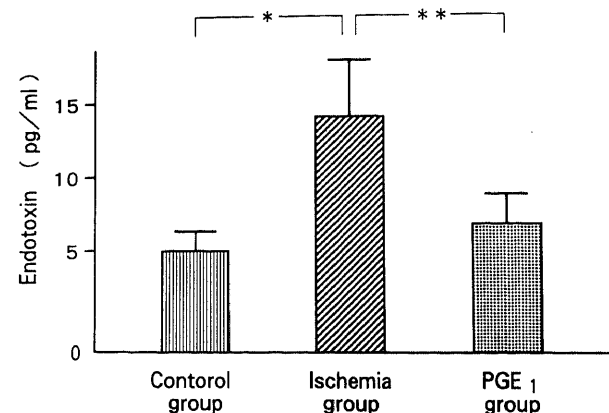


Fig. 7. Changes of endotoxin in portal vein following ischemia and recirculation. \* P < 0.01, \*\* P < 0.05.

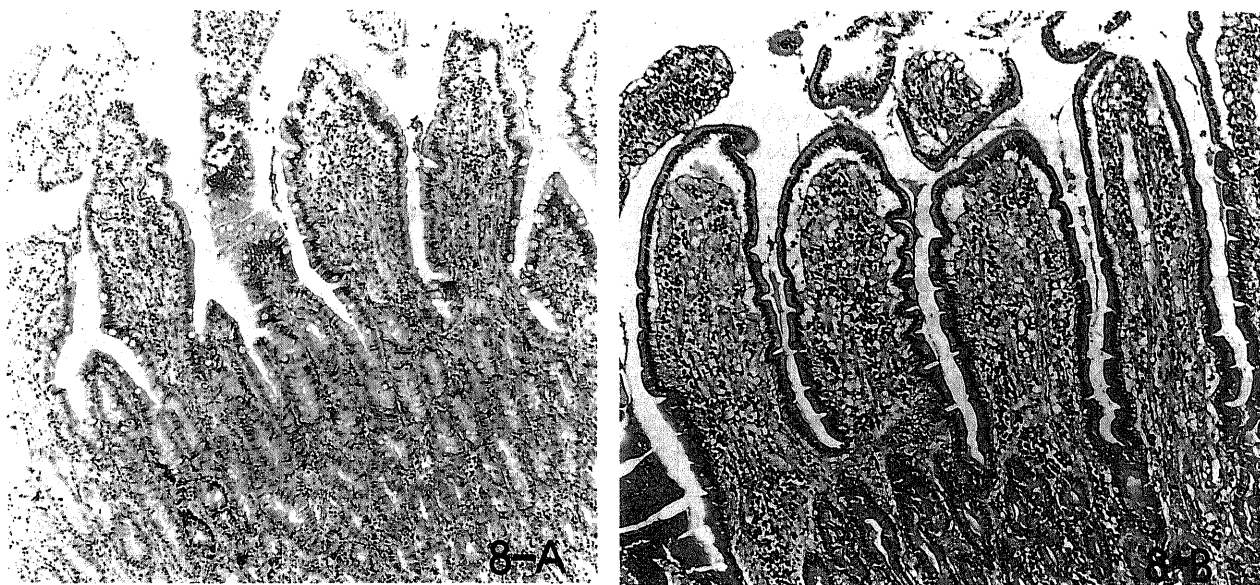


Fig. 8. Histological findings of the intestinal mucosa at 60 minutes after declamping. (A) Ischemia group shows desquamation of the epithelium at the short and broad villus tips (HE stain,  $\times 250$ ). (B) Glycoprotein are decreased in ischemia group (PAS stain,  $\times 300$ ).

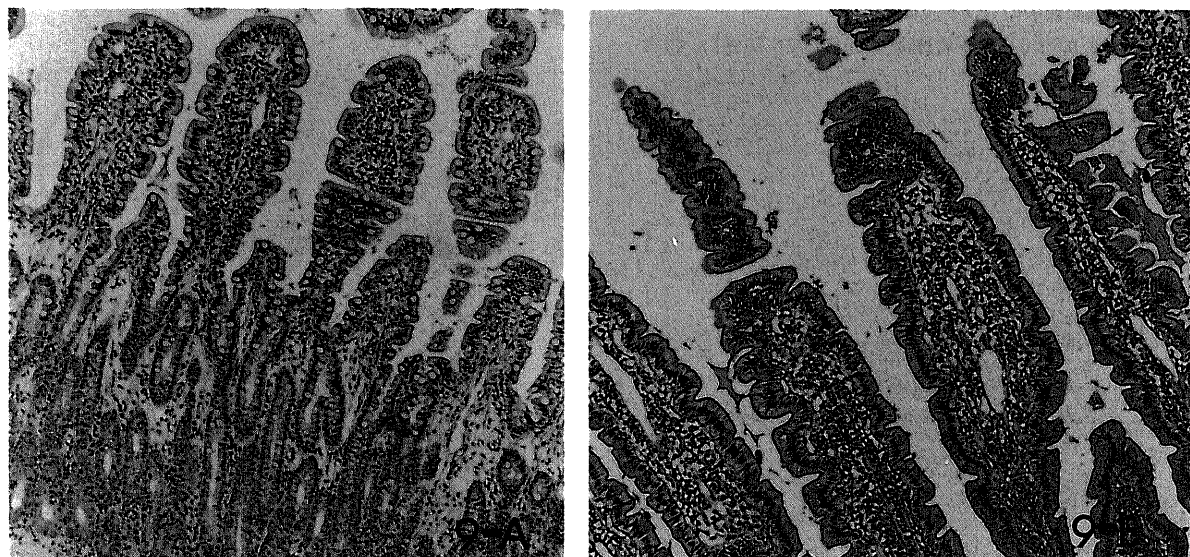


Fig. 9. Histological findings of the intestinal mucosa in the  $PGE_1$  group. (A)  $PGE_1$  group shows no desquamation (HE stain,  $\times 250$ ). (B) There are glycoprotein rich in  $PGE_1$  group (PAS stain,  $\times 300$ ).

白の増加は認められなかった。また、絨毛の短小化、棍棒状肥大が認められた(図 8-A, 図 8-B)。一方、 $PGE_1$ 投与群では、杯細胞の減少も絨毛の変化も軽度で、PAS 陽性所見も認められた(図 9-A, 図 9-B)。

#### 考 察

小腸粘液は小腸粘膜上皮を覆い、腸内細菌の進入や、物理的、化学的刺激から腸粘膜を保護している<sup>10)</sup>。その構成成分は、小腸粘膜の杯細胞で合成されたグルコサミン、ガラクトサミン、ガラクトース等の糖蛋白と、シアル酸等の脂肪酸からなり<sup>11)2)</sup>、活発に生合成されると同時に常に攻撃因子による消化、

分解を受けている<sup>13)</sup>。粘液の増減と生合成の変化については、各種のトキシン、化学物質投与に対する胃粘液に関する知見<sup>14)5)</sup>が既に報告されているが、小腸阻血時における報告はみられない。

一方、PG はほとんどの細胞で、その細胞に対する刺激情報に反応して動員される。刺激の種類としては、ホルモンや薬物、機械的刺激、細菌やウイルス、神経刺激などがあり、これらの刺激に対して細胞膜が感応する。生合成された PG は、その細胞周辺で作用を発揮する。PG が消化管粘膜において種々の潰瘍形成刺激に対して粘膜を直接に保護し潰瘍形成を防ぐ事実は既に数多く報告されている<sup>16)~18)</sup>。Robert ら<sup>16)</sup>はラットにア

ルコールや塩酸を経口投与し、胃粘膜壊死をおこさせ、この障害が PG を前投与することにより予防され、かつこの効果は胃酸分泌抑制および胃粘膜血流上昇を介していない事を示し、胃粘膜に対する PG の細胞保護作用 (cytoprotection) と称した。近年このような消化管粘膜に対する PG の効果は胃粘膜のみでなく、膵管<sup>19)</sup>、小腸粘膜<sup>20)</sup>にもおよぶとされ、PG の細胞保護作用の機構としては、粘液分泌の促進<sup>21)</sup>、細胞膜の安定化<sup>22)</sup>、粘膜血流の増加<sup>23,24)</sup>、栄養効果<sup>25)</sup>等が考えられているが、それについて否定的な報告もあり<sup>26)</sup>、詳細は明かではない。

そこで、本研究では、小腸阻血前後の粘膜糖蛋白組成の経時的变化と、温阻血による粘膜障害の軽減を目的とした PGE<sub>1</sub> 投与による変化を検討した。防御因子のうち粘膜表面を覆う粘液は攻撃因子に対する最初の関門として重要であり、Hollander<sup>27)</sup> は two-component barrier を提唱し、粘液とその下層の上皮細胞の重要性を強調している。また、Allen<sup>28)</sup>によれば、このバリアーとしての粘液はガラクトサミン、グルコサミン、ガラクトース、シアル酸からなるオリゴサッカライドの側鎖が多数結合した状態になっているとされている。したがって、本研究では、ガラクトサミン、グルコサミン、シアル酸等の糖蛋白、脂肪酸を定量した。

本研究では、小腸阻血障害モデルを作製したが、小腸温阻血により粘液糖蛋白は減少しその粘液糖蛋白減少はガラクトサミンの減少によるものであった。一方 PG 投与により小腸粘液糖蛋白は増加し、その結果、門脈血中エンドトキシンは低下し、組織学的にも杯細胞の減少も軽度で、絨毛の変化も軽度であった。グルコサミン、ガラクトサミン等の糖蛋白の増加も認められ、粘膜組織障害は軽度であると考えられた。その粘液糖蛋白増加はグルコサミンの増加によるものであった。小腸粘膜中の ATP、cAMP の値は PG 投与により増加した。これは PGE<sub>1</sub> 投与により組織内 ATP 値が上昇し、投与終了後は代償的に ATP 合成能が亢進したものと考えられた。また、ATP が種々の細胞において内因性のプロスタグランデン合成を促進することが報告されており<sup>29)</sup>、PGE<sub>1</sub> 投与により ATP を介してさらに内因性の PG 合成が促進されている可能性も考えられる。PGE 群がアデニール酸シクラーゼ活性を刺激し<sup>30,31)</sup>、その結果、細胞内の cAMP を上昇させることは Samuelson ら<sup>32)</sup>によって報告されている。またこの cAMP の上昇がさらに DNA 合成の上昇を引き起こすことから<sup>33)</sup>、小腸阻血障害時の PGE<sub>1</sub> の細胞保護効果は、cAMP の上昇を介しての糖蛋白合成促進、粘液合成促進による可能性が強く示唆される。PG 投与中は小腸粘膜より粘液糖蛋白放出がおこり、粘液増加を引き起こすが、また、ATP、cAMP 値の推移から、PG 投与終了後の粘液糖蛋白の増加は、PG 投与により ATP を介してさらに内因性の PG 合成が促進されることによる可能性が考えられる。

### 結 論

イヌ小腸阻血、再灌流モデルにおいて、粘膜糖蛋白の意義および粘膜糖蛋白の粘膜障害の指標としての有用性を調べる目的で、小腸粘膜グルコサミン、ガラクトサミン、シアル酸の経時的变化を検討した。また、粘膜障害の軽減を目的とした PGE<sub>1</sub> 投与による粘膜糖蛋白の経時的变化について検討した結果以下の結論を得た。

1. 小腸の温阻血と再灌流により粘膜組織中の、ガラクトサミン量は有意に減少した。また、小腸粘膜を構成する脂肪酸で

あるシアル酸も有意に減少した。

2. PGE<sub>1</sub> 投与によりグルコサミン量は有意に増加した。

3. 小腸の温阻血と再灌流により小腸粘膜組織中の ATP と cAMP は有意に減少したが、PGE<sub>1</sub> 投与群では有意に増加した。

4. 門脈血中エンドトキシンは、阻血群では対照群に比し有意に増加したが、PGE<sub>1</sub> 投与群では阻血群に比し有意に低下した。

5. 粘膜組織学的には、阻血群では対照群より粘膜糖蛋白が減少したが、PGE<sub>1</sub> 投与群では粘膜糖蛋白の減少は認められなかった。

以上より、小腸の温阻血と再灌流により粘膜障害として粘液と粘膜を構成する糖蛋白量は減少し、粘膜障害の指標として有用であった。また、PGE<sub>1</sub> の投与は糖蛋白の生合成を促進させることにより粘膜障害を軽減したと考えられた。

### 謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師宮崎逸夫教授に衷心から感謝の意を捧げます。また、終始直接御指導下さいました八木雅夫博士ならびに協力いただいた教室の諸兄に深く感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨の一部は第90回日本外科学会総会(1990, 札幌)において発表した。

### 文 献

- 1) Clamp, J. R.: The relationship between secretory immunoglobulin A and mucus. *Trans. Biochem. Soc.*, 5, 1579-1581 (1977).
- 2) Forstner, G., Wesley, A. & Forstner, J.: Clinical aspects of gastrointestinal mucus. *In* E. Chantler & J. Elder (eds.), *Mucus in Health and Disease*, 2nd ed., pl-199, Plenum Press, New York, 1982.
- 3) Forstner, J. F.: Intestinal mucins in health and disease. *Digestion*, 17, 234-263 (1978).
- 4) Florey, H.: Mucin and the protection of the body. *Proc. R. Soc. Lond. [B]*, 143, 144-158 (1955).
- 5) Florey, H.: The secretion and function of intestinal mucus. *Gastroenterology*, 42, 326-329 (1962).
- 6) Chiu, C. J., Scott, H. J. & Gurd, F. N.: Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. The protective effect of intraluminal glucose as energy substrate. *Arch. Surg.*, 101, 484-488 (1970).
- 7) 荒川哲夫: ラット胃粘膜 prostaglandin E<sub>2</sub> に関する研究(第1報) - 測定法の確立と非ステロイド系炎症剤による影響について - . *日消誌*, 77, 1052-1059 (1980).
- 8) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol. Chem.*, 193, 265-275 (1951).
- 9) 孫 孝義, 古川洋太郎, 弓田 滋, 三浦 良, 吉永 馨, 山根良太: 血漿 cyclicAMP 測定の基礎的検討と腎原性 cyclicAMP 測定の臨床応用. *日内分泌会誌*, 61, 9, 912-923 (1985).
- 10) Heatley, N. G.: Mucosubstance as a barrier to diffusion. *Gastroenterology*, 37, 313-318 (1959).
- 11) Cassidy, M. M., Lightfoot F. G. & Vahouny, G.

- V.: Structural-functional modulation of mucin secretory patterns in the gastrointestinal tract. *Prog. Clin. Biol. Res.*, **73**, 97-127 (1981).
- 12) **Bella, A. & Kim, Y. S.**: Rat small intestinal mucins: isolation and characterisation of a water soluble mucin fraction. *Arch. Biochem. Biophys.*, **150**, 679-689 (1972).
- 13) **Roberts, S. H., Hefferman, C. & Douglas, A. P.**: The sialic acid and carbohydrate content and the synthesis of glycoprotein from radioactive precursors by tissues of the normal and diseased upper intestinal tract. *Clin. Chim. Acta*, **63**, 121-128 (1975).
- 14) **Florey, H.**: Mucin and the protection of the body. *Proc. R. Soc. Lond. [B]*, **143**, 144-158 (1955).
- 15) **Williams, S. E. & Turnberg, L. A.**: Studies of the "protective" properties of gastric mucus. Evidence for mucus bicarbonate barrier. *Gut*, **20**, A922-923 (1979).
- 16) **Robert, A., Nezamis, A., Lancaster, C. & Hanchar, A. J.**: Cytoprotection of prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCL, NaOH, Hypertonic NaCL, and thermal injury. *Gastroenterology*, **77**, 433-443 (1979).
- 17) **Bolton, J. P. & Cohen, M. M.**: Effect of 16, 16-dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub> on the gastric mucosal barrier. *Gut*, **20**, 513-517 (1979).
- 18) **Chaudhury, T. K. & Jacobson, E. D.**: Prostaglandin cytoprotection of gastric mucosa. *Gastroenterology*, **74**, 58-63 (1978).
- 19) **Tweedie, J. H., Mosley, J. G., Austin, J. L.**: Effect of 16, 16-dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub> on aspirin-induced permeability changes in the pancreatic duct. *Am J Surg.*, **141**, 22-27 (1981).
- 20) **Lancaster, C. & Robert, A.** Intestinal lesions produced by prednisolone: Prevention (cytoprotection) by 16, 16-dimethyl prostaglandine E<sub>2</sub>. *Am. J. Physiol.*, **235**, E703-708 (1978).
- 21) **Bolton, J. P., Palmer, D. & Cohen, M. M.**: Stimulation of mucus and nonparietal cell secretion by the E<sub>2</sub> prostaglandins. *Am. J. Dig. Dis.*, **23**, 359-364 (1978).
- 22) **Bolton, J. P. & Cohen, M. M.**: Effect of 16, 16-dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub> on the gastric mucosal barrier. *Gut*, **20**, 513-517 (1979).
- 23) **Chapnick, B. M., Feigen, L. P., Hyman, A. L. & Kadowitz, P. J.**: Differential effects of prostaglandins in the mesenteric vascular bed. *Am. J. Physiol.*, **235**, H326-332 (1978).
- 24) **Shehadeh, Z., Price, W. E. & Jacobson, E. D.**: Effects of vasoactive agents on intestinal blood flow and motility in the dog. *Am. J. Physiol.*, **216**, 386-392 (1969).
- 25) **Johansson, C. & Kollberg, B.**: Stimulation by intragastrically administered E<sub>2</sub> prostaglandins of human gastric mucus output. *Eur. J. Clin. Invest.*, **9**, 229-232 (1979).
- 26) **Miller, T. A.**: Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: Current knowledge and proposed mechanism. *Am. J. Physiol.*, **245**, G601-G623 (1983).
- 27) **Hollander, F.**: The two-component mucus barrier. *Arch. Intern. Med.*, **10**, 107-120 (1954).
- 28) **Allen, A.**: Structure and function of gastrointestinal mucus. *In* L. Johnson (ed.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 1st ed., pl-617, Raven Press, New York, 1981.
- 29) **Robert, A., Nezamis, J. E. & Lancaster, C.**: Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptive cytoprotection" mediated by prostaglandins. *Am. J. Physiol.*, **245**, G113-121 (1983).
- 30) **Sonnenberg, A., Hunziker, W., Koelz, H. R., Fischer, J. A. & Blum, A. L.**: Stimulation of endogenous cyclic AMP (cAMP) in isolated gastric cells by histamine and prostaglandin. *Acta Physiol. Scand. (Spec. Suppl.)*, 307-317 (1978).
- 31) **Wollin, A. W., Soll, A. H. & Samloff, I. M.**: Actions of histamine, secretin, and prostaglandin E<sub>2</sub> on cyclic AMP production by isolated canine fundic mucosal cells. *Am. J. Physiol.*, **237**, E437-443 (1979).
- 32) **Samuelson, B., Goldyne, M., Granstrom, E., Hamberg, M., Hammarstrom, S. & Malmsten, C.**: Prostaglandins and thromboxanes. *Annu. Rev. Biochem.*, **47**, 997-1029 (1978).
- 33) **Rozengurt, E., Collins, M. K. L. & Keehan, M.**: Mitogenic effect of prostaglandin E<sub>1</sub> in Swiss 3T3 cells: Role of cyclic AMP. *J. Cell Physiol.*, **116**, 379-384 (1983).
- 34) 藪下りよ子, 阿部淑子, 村田健二郎: 血中エンドトキシン測定法の検討—合成基質発色定量法キット"Toxicolor Test"(生化学工業)に関して—. *臨床検査機器—試薬*, **7**, 657-664 (1984).

**Changes in Mucosal Glycoprotein at Ischemia and Reperfusion of the Small Intestine** Kann Tomita, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., 103, 621—627 (1994)

**Key words** intestinal ischemia, mucus glycoprotein, prostaglandin E<sub>1</sub>, cytoprotection

#### Abstract

The changes of glycoproteins in the small intestine when they were subject to ischemia and reperfusion and the changes of those glycoproteins when prostaglandin E<sub>1</sub> was given were examined in dogs. In the control group, jejunum were isolated but the superior mesenteric artery and vein were preserved. The ischemia group were subjected to warm ischemia for 1 hour by the blocking superior mesenteric artery and vein with vascular forceps. The PGE<sub>1</sub> group were administered 1.0  $\mu$ g/kg/min of PGE<sub>1</sub> after ischemia for 30 min. The volume of galactosamine and sialic acid was significantly decreased in the ischemia group (8.5 mg/dryweight/mg protein, 1.1 mg/dryweight/mg protein) compared with that in the control group (11.3, 1.5) but, the volume of glucosamine was significantly increased in the PGE<sub>1</sub> group (14.0 mg/dryweight/mg protein) compared with that in the control group (10.9). The volume of ATP and cAMP in the ischemia group (2.2  $\mu$ g/dryweight/mg protein, 377 pmol/dryweight/mg protein) was significantly lower than that in the control group (8.0, 490) throughout the time period tested. Endotoxin in the portal vein was significantly increased in the ischemia group (14.3 pg/ml) compared with that in the control group (5.3). In the PGE<sub>1</sub> group, the volume of ATP and cAMP, 9.7 and 597 respectively was significantly higher than that in the ischemia group. Endotoxin in the portal vein was significantly in decreased in the PGE<sub>1</sub> group compared with that in the control group. Glycoproteins present in the mucosa of the small intestine, such as glucosamine, galactosamine, and sialic acid, were reduced by ischemia and reperfusion of the small bowel, and the mucosal epithelium was damaged. However, this damage was significantly inhibited by the administration of PGE<sub>1</sub>. ATP and cAMP increased when PGE<sub>1</sub> was given. This suggests that PGE<sub>1</sub> has mucosal protective functions via ATP and cAMP protein synthesis.