

肝障害時における胃粘膜障害に関する研究

第 1 編

— ラットにおける基礎的検討 —

岡山大学医学部第一内科学教室（主任：長島秀夫教授）

杉 原 徹

（昭和61年11月25日受稿）

Key words : 肝障害, 胃粘膜障害, 胃粘膜血流,
potential difference,
prostaglandin E₂

緒 言

肝硬変症では上部消化管出血の頻度が高いことが古くから知られている。その原因として食道静脈瘤の破裂に次いで胃粘膜病変からの出血が多く、肝硬変患者の胃粘膜病変の重要性が指摘されている^{1,2)}。肝硬変症では肝循環抵抗増加により門脈圧亢進状態が生じ、胃の血行動態にも影響を及ぼしていると考えられ、門脈圧亢進状態の胃粘膜障害に及ぼす影響が再評価されてきている。一方balance theory³⁾の立場から、肝硬変症では攻撃因子は正常もしくは低下し、防御因子は低下するという報告⁴⁻⁶⁾が多く、最近では防御因子についての面からの検討が多くなされている。

そこで、肝障害が胃粘膜に及ぼす影響について門脈圧亢進状態と肝実質障害とに分けて検討するため、門脈圧亢進状態のモデルとして門脈狭窄ラットを作成、また門脈圧亢進状態と肝実質障害をあわせもつモデルとしては四塩化炭素による肝障害ラットを作成した。これらのラットをもちいて、門脈圧亢進状態および肝実質障害が胃粘膜に及ぼす影響を胃粘膜防御機能の面から検討した。すなわち、門脈圧亢進状態と密接な関係があると思われる胃粘膜血流（以下BFと略す）および胃粘膜関門の指標とされている胃粘膜potential difference（以下PDと略す）

を測定した。また近年生体局所で種々の作用が明らかにされ注目されている prostaglandinsのうち、胃粘膜内に多く存在し胃粘膜防御機能に強く関与しているとされる胃粘膜内 prostaglandin E₂（以下、PGE₂と略す）⁷⁾を測定した。

対象ならびに方法

1) 対象

体重250g前後のSprague-Dawley系雄性ラットを用いて門脈狭窄ラットおよび肝障害ラットを作成し、無処置のラットを対照とし比較検討した。

（1）門脈狭窄ラットの作成：エーテル吸入麻酔下に腹部正中切開後、門脈本幹を左右分枝直前で2号絹糸にて外径1.2mmとなるように門脈狭窄を作成し、2週間後に測定を行った。

（2）肝障害ラットの作成：四塩化炭素をオリーブ油で50%に希釈し、体重100gあたり0.1mlを週2回12週間皮下注射して作成した。0.05%フェノバルビタール液を飲料水として用いた。

なお、以下の測定は24時間絶食後、エーテル吸入麻酔下に腹部正中切開で開腹し行った。

2) 門脈圧測定

各群ラットについて上腸間膜静脈枝より24Gのエラスト針を刺入して門脈本幹に留置し、門脈圧を測定した。単位はmmH₂Oで表示した。

3) BFの測定

各群ラットについて水素ガスクリアランス法にて腺胃体部、腺胃前庭部のBFを測定し、単位は $\text{ml}/\text{min}/100\text{g}$ で表示した⁸⁾。装置は、UNIQUE MEDICAL 社製吸入式水素ガスクリアランス式組織血流計 (PHG-201)、刺入式 UHメータ電極 (UH-201)、不関電極 (UH-002) を用いた。関電極を漿膜側より刺入し粘膜内に固定、不関電極を大腿部内側皮下に固定し、水素ガス $0.5\text{ml}/\text{min}$ 、2 分間吸入させた。

4) PD の測定

Anderson ら^{9,10)} の方法に準じ、KCl 電極は、3% 寒天と飽和 KCl の混合液を口径 2 mm のポリエチレンチューブに封入して作成した。これを KCl を満たしたピーカーに誘導し、カロメル塩橋にて富士化学計測社製 pH メーター (FL-5W) に接続し胃粘膜 PD を測定した。KCl 電極は胃粘膜面に、比較電極は対側の胃漿膜面に接触させ、指針が安定する約 5 分後に測定した。単位は mV で表示した。

5) PGE_2 の測定

摘出した胃を -70°C にて凍結保存し 1 週間以内に測定に用いた。網岡ら^{11,12)} の方法に従い、腺胃体部と腺胃前庭部に分け粘膜を剥離し ethyl-acetate で抽出しケイ酸カラムにて精製分離した

後、New England Nuclear 社の ^{125}I RIA kit にて測定した。 PGE_2 測定値は最終回収率及び Lowry 法¹³⁾ による蛋白量で補正換算し、単位は pg/mg protein で表示した。最終回収率は $66 \pm 20\%$ であった。

なお、統計学的検定は、student *t*-test で行った。

成 績

門脈圧 (mmHg) は対照群では ($n=11$) 133 ± 22 、門脈狭窄群では ($n=10$) 213 ± 27 、肝障害群では ($n=7$) 201 ± 25 で、対照群に比して門脈狭窄群、肝障害群ともに同程度に有意に上昇していた (Table 1)。しかし、門脈狭窄群、肝障害群ともに肉眼的にはびらん等の胃粘膜病変を認め

Table 1 Portal pressure in rats with portal stenosis and liver damage.
No.: Number of rats,
mean $\pm$ SD, *: $p < 0.001$ compared with control.

	No.	Portal pressure
Control	11	132.9 ± 21.7
Portal stenosis	10	$212.5 \pm 27.3^*$
Liver damage	8	$201.3 \pm 24.6^*$

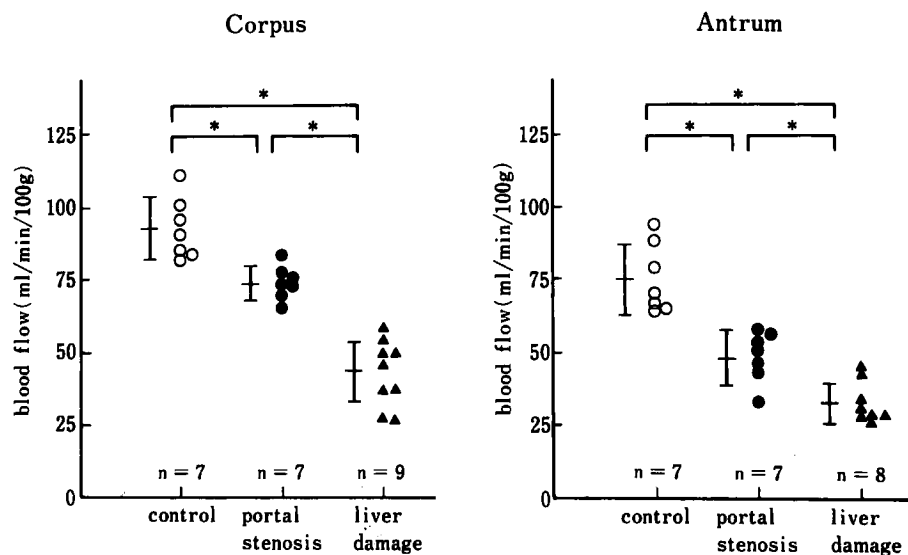


Fig. 1 Gastric mucosal blood flow in rats with portal stenosis and with liver damage.

mean $\pm$ SD, *: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$.

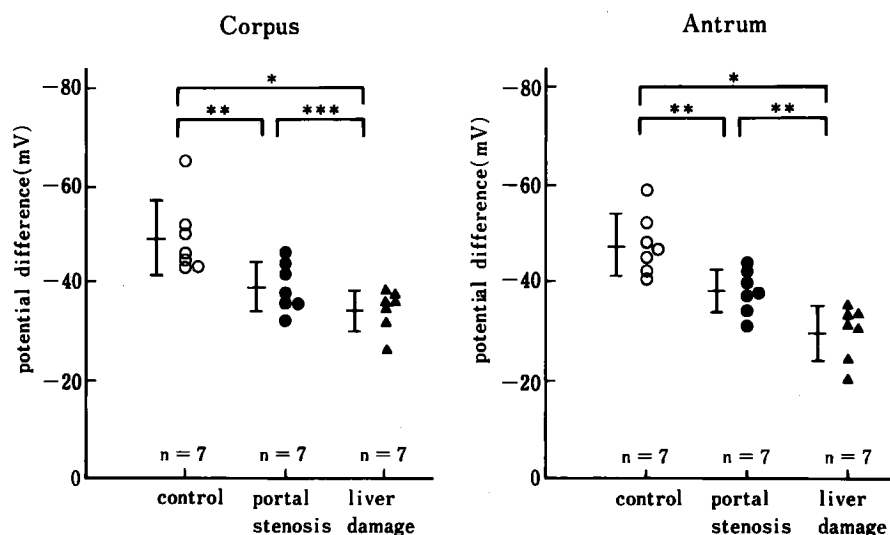


Fig. 2 Gastric mucosal potential difference in rats with portal stenosis and with liver damage.

mean $\pm$ SD, *: $p<0.001$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.05$.

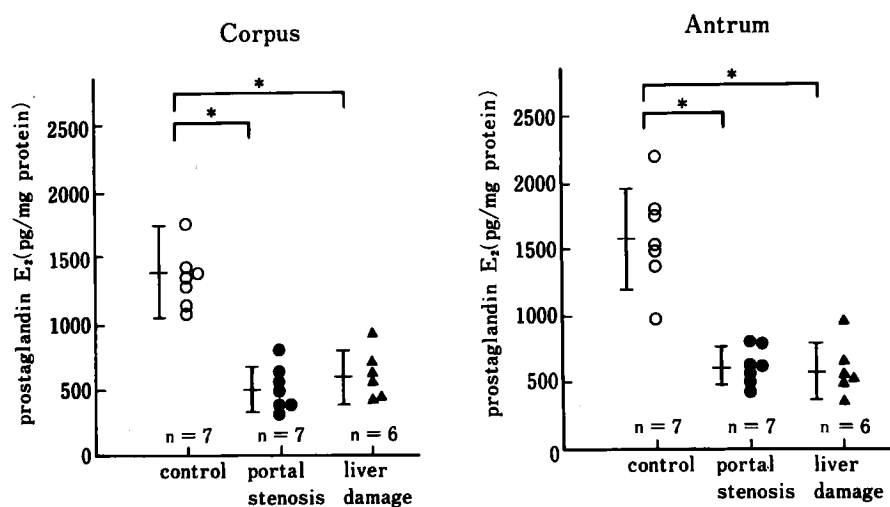


Fig. 3 Gastric mucosal prostaglandin E₂ in rats with portal stenosis and with liver damage.

mean $\pm$ SD, *: $p<0.001$.

なかった。

腺胃体部, 腺胃前庭部の BF (ml/min/100g) はそれぞれ対照群では (n=7) 93 ± 11 , 75 ± 12 , 門脈狭窄群では (n=7) 73 ± 6 , 48 ± 9 , 肝障害群では (n=8) 43 ± 10 , 32 ± 7 で対照群に比して門脈狭窄群, 肝障害群で低下しており, 門脈狭窄群と肝障害群との比較では肝障害群がより低

下していた (Fig. 1)。

腺胃体部, 腺胃前庭部の PD (mV) はそれぞれ対照群では (n=7) -49 ± 8 , -48 ± 6 , 門脈狭窄群では (n=7) -39 ± 5 , -38 ± 5 , 肝障害群では (n=6) -34 ± 4 , -30 ± 6 であった。BF と同様に PD は対照群に比して門脈狭窄群, 肝障害群で低下しており, 門脈狭窄群と肝障害群との比

較では肝障害群がより低下していた (Fig. 2).

腺胃体部、腺胃前庭部の PGE_2 (pg/mg protein) は、対照群は ($n=7$) 1388 ± 347 , 1591 ± 384 , 門脈狭窄群では ($n=7$) 499 ± 163 , 613 ± 140 , 肝障害群では ($n=6$) 587 ± 197 , 572 ± 203 であった. PGE_2 は対照群に比して門脈狭窄群, 肝障害群で低下していたが, 門脈狭窄群と肝障害群との間には有意な差を認めなかった (Fig. 3).

考 案

肝障害が胃粘膜に及ぼす影響について, 門脈圧亢進状態に着目し胃粘膜防御能の面から門脈狭窄ラットと肝障害ラットとで比較検討した. 門脈狭窄ラットでは門脈狭窄2週間後には開腹等の操作に伴う影響は殆ど消失し安定した時期となっていると考えられ, 肝は組織学的には著変を認めなかった. ラットでは側副血行路が発達しているため食道静脈瘤はできず, 門脈圧亢進状態も持続しないとされている¹⁴⁾が, 今回の実験では作成2週間後の門脈狭窄ラットの門脈圧は対照群に比し有意に増加しており, このモデルが門脈圧亢進状態の胃粘膜への影響を検討するため適当なモデルと考えられた. 一方, 肝障害は肝細胞に四塩化炭素が直接作用して肝細胞膜の脂質の過酸化を起こすことにより生じ, 四塩化炭素は胃粘膜に対しては直接作用は少ないとされている^{15,16)}. また林¹⁷⁾は四塩化炭素投与にて組織学的に肝臓では細胞浸潤を伴った偽小葉を形成すると述べ, 今回の検討でも同様の所見であった. さらに今回作成した肝障害ラットの門脈圧も門脈狭窄ラット同様に対照群に比し有意に増加しており, この肝障害ラットは門脈圧亢進と肝障害をあわせもつモデルと考えられた.

今回の検討で門脈圧亢進状態および肝障害時の胃粘膜においては防御因子であるBF, PDの低下がみられ, 防御に関与する因子である PGE_2 も同様に低下しており, 胃粘膜防御機能の低下が推測された.

さて, 肝障害時のBFについて真辺ら¹⁸⁾は肝硬変家兔を作成しradioactive microsphereを用いた実験にてシャントの存在を指摘し, 有効血流量は体部で増加し, 前庭部で低下していた

としている. 高田ら¹⁹⁾は肝障害ラットを作製し, 水素ガスクリアランス法を用い体部, 前庭部とも低下していたと報告している. 真辺らのmicrosphereを用いた物理的な方法はシャントの存在を検討するには適当と思われるが, 胃粘膜表層の微小血行動態といった機能面を検討するには水素ガスクリアランス法の方が適していると考えられる. そこで今回水素ガスクリアランス法を用いて検討したところ, 対照群に比して肝障害群の体部, 前庭部でBFはともに有意に低下しており高田らと同様の結果を得た. また門脈狭窄群でもBFは低下し, 肝障害時のBFの低下に門脈圧亢進状態が関与していることが示唆された. しかし肝障害群と門脈狭窄群とは門脈圧が同程度にもかかわらず, 肝障害群の方がBFの低下の程度が強く, 肝障害群ではBFの低下は門脈圧亢進状態以外に肝実質障害によるなんらかの影響を受けていることが容易に考えられた.

PDは胃粘膜と漿膜との間の電位差を示し現在では各種イオンの能動輸送, 浸透圧勾配, 拡散などの因子の総和と考えられており, 胃粘膜関門を表現しているとされている. 門脈狭窄群, 肝障害群とも対照群に比し有意に低下しており, 門脈圧亢進状態の関与が示唆された. さらにPDも両群間では肝障害群の方がより低下しており, 稲垣²⁰⁾も指摘しているように門脈圧亢進状態の他に肝実質障害による影響もBF同様に受けられていると考えられた.

胃粘膜内prostaglandinsについては, cytoprotectionという概念をRobert²¹⁾が提唱して以来多くの研究がなされている. 胃粘膜内には PGE_2 が最も多く存在するとされ⁷⁾, PGE_2 の働きとして粘液の産生分泌亢進²²⁾, 胃粘膜の透過性の低下²³⁾, HCO_3^- 分泌亢進²⁴⁾, 細胞膜の安定化²⁵⁾, 胃粘膜血流増加もしくは血流維持作用^{26,27)}などが報告され, PGE_2 は胃粘膜防御に関与する因子として重要な位置を占めてきている. また攻撃因子にも作用し, 胃酸分泌抑制作用を認める²⁸⁾との報告もあり, PGE_2 は調整因子として位置づけられている. 中村ら²⁹⁾は肝障害ラットにて PGE_2 が低下したと報告しているが, 著者の検討でも PGE_2 は肝障害群, 門脈狭窄群とも

に对照群に比し有意に低下していた。PGE₂の低下に門脈圧亢進状態が大きな影響を及ぼしていると推測された。また今回の検討における門脈狭窄群および肝障害群でのBFとPDの低下には、PGE₂が関与している可能性が示唆された。門脈狭窄群と肝障害群ではPGE₂の低下の程度はほぼ同じであったが、PGE₂と胃酸分泌との間には feedback mechanism の存在も考えられており^{30,31)}、また肝障害時には胃酸分泌は低下するとの報告を認めることから、門脈圧上昇のみと肝障害に伴う門脈圧の上昇ではPGE₂の動態に差異がある可能性が十分にあり、今後より詳細な検討が必要と考えられた。

結 語

肝障害ラットおよび門脈狭窄ラットを作成し、肝障害時に生じる胃粘膜障害について検討した。BF, PD, PGE₂を測定して胃粘膜防御に関与する因子を両群で比較検討し以下の結果を得た。

- 1) BFは門脈狭窄群、肝障害群ともに对照群に比して低下していた。また門脈狭窄群、肝障害群とも門脈圧は同程度に上昇していたが、BFは肝障害群では門脈狭窄群に比してより低値を示した。
- 2) PDも門脈狭窄群、肝障害群ともに对照群に比して低下していた。またPDはBFと同様に肝障害群では門脈狭窄群に比してより低値を示した。
- 3) PGE₂は門脈狭窄群、肝障害群ともに对照群に比して同程度に低下していた。

本論文の要旨およびその一部は第72回日本消化器病学会総会、第30回日本消化器内視鏡学会総会、ならびに第18回日本門脈圧亢進症研究会にて発表した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました長島秀夫教授に深謝致します。また、直接御指導いただいた友田 純博士ならびにご協力頂いた教室の諸先生に心から感謝致します。

文 献

1. Palmer L C and Brick I B: Sources of upper gastrointestinal hemorrhage in cirrhotic patients with esophageal varices. *N Engl J Med* (1953) **248**, 1057-1058.
2. Enquist I F and Gliedman M L: The sources of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis. *Surg Gynecol Obstet* (1958) **106**, 153-158.
3. Shay H and Sun D C H: Etiology and pathology of gastric and duodenal ulcer; in *Gastroenterology* Vol. 1, Bockus ed, Saunders, Philadelphia (1964) pp.420-465.
4. Ostrow J D, Timmerman R J and Gray S J: Gastric secretion in human hepatic cirrhosis. *Gastroenterology* (1960) **38**, 303-313.
5. 加藤抱一: 門脈圧亢進例における胃酸分泌. *日消誌* (1979) **76**, 1427-1439.
6. Mazzacca G, Budillon G, De Marco F and De Rita F: Serum gastrin in patients with cirrhosis of the liver. *Digestion* (1974) **11**, 232-239.
7. 中村 肇, 荒川哲男, 小林絢三: ラット胃における prostaglandin の合成・遊離に関する研究. *日消誌* (1982) **79**, 1996.
8. Aukland K, Bower B F and Berliner R W: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ Res* (1964) **14**, 164-187.
9. Anderson M D and Grossman M I: Profile of pH, pressure, and potential difference at gastroduodenal junction in man. *Gastroenterology* (1965) **49**, 364-371.
10. Anderson S and Grossman M I: Effects of histalog and secretion on gastroduodenal profile of pH, potential difference, and pressure in man. *Gastroenterology* (1966) **51**, 10-17.
11. 網岡逸男: 胃液 Prostaglandin E の研究第1編: 測定法と健常者における意義. *日消誌* (1981) **78**, 2087-2086.

12. 網岡逸男, 有馬輝勝, 岡本 伸, 長島秀夫: Phenylbutazone 潰瘍ラットにおける胃粘膜 Prostaglandin の研究. 日消誌 (1982) **79**, 782-789.
13. Lowry O H, Rosebrough N J, Far A L and Randall R J: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem (1951) **193**, 265-275.
14. 梅山 馨: 動物実験法, 門脈圧亢進症 肝胆膵 (1982) **5**, 795-800.
15. Judah J D, Mclean A E M and Mclean K: Biochemical mechanisms of liver injury. Am J Med (1970) **49**, 609-616.
16. Recknagel R O, Ugazio G, Koch R R and Glende Jr E A: New perspectives in the study of experimental carbon tetrachloride liver injury. Vol 1, Williams and Wilkins, Baltimore (1973) pp.150-160.
17. Hayashi S: Experimental studies on nutrition management in liver injury. Acta Med Okayama (1983) **37**, 107-123.
18. 真辺忠夫, 鈴木 徹, 本庄一夫: 肝硬変症時の胃粘膜発生機序 - 胃血行動態よりの検討. 日消誌 (1977) **74**, 40-51.
19. 高田孝好, 裏川公章, 高瀬信明, 中山康夫, 香川修司, 林 民樹, 長畑洋司, 斉藤洋一: 肝障害時の急性胃病変発生について. 日消誌, 第25回日本消化器病学会大会抄録集 (1983) **80**, 2118.
20. 稲垣芳則: 門脈圧亢進 rat の胃粘膜変化に関する実験的研究. 慈医誌 (1981) **96**, 197-211.
21. Robert A: Antisecretory, antiulcer, cytoprotective and diarrheogenic properties of prostaglandins. In Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research. Vol. 2, Samuelsson and Paoletti eds, Raven Press (1976) p.507.
22. Bolton J P, Palmer D and Cohen M X: Stimulation of mucus and nonparietal cell secretion by the E_2 prostaglandins. Am J dig Dis (1978) **23**, 359-364.
23. Chaudhury T K and Jacobson E D: Prostaglandin cytoprotection of gastric mucosa. Gastroenterology (1978) **74**, 58-63.
24. Garner A and Heylings J R: Stimulation of alkaline secretion in amphibian-isolated gastric mucosa by 16, 16-dimethyl PGE_2 and $PGF_2 \alpha$. A proposed explanation for some of the cytoprotective actions of prostaglandins. Gastroenterology (1979) **76**, 497-503.
25. Ferguson W W, Edmons A W, Starling J R and Wangenstein S L: Protective effect of prostaglandin E_1 (PGE_1) on lysosomal enzyme release in serotonin induced gastric ulceration. Ann Surg (1973) **77**, 648-654.
26. 小林絢三: 胃粘膜血流の調整とプロスタグランディン. 消化管血流の研究 (1985) **2**, 33-43.
27. Main I H and Whittle B J R: The effects of E and A prostaglandins on gastric mucosal blood flow and acid secretion in the rat. Br J Pharmacol (1973) **49**, 428-436.
28. Robert A, Nezamis J E and Phillips J P: Inhibition of gastric secretion by prostaglandin. Am J Dig Dis (1967) **12**, 1073-1076.
29. 中村 肇, 小林絢三, 荒川哲男, 畑山 充, 鎌田悌輔, 小野時雄: ラット胃粘膜 Prostaglandin E_2 に関する研究 (第5報) - CCl_4 肝障害による影響 - . 日消誌 (1981) **78**, 1915-1919.
30. Baker R, Jaffe B M, Reed J D, Shaw B and Venables C W: Endogenous prostaglandin and gastric secretion in the cat. J Physiol (1978) **278**, 451-461.
31. Robert A, Schultz J R, Nezamis J E and Lancaster C: Gastric antisecretory and antiulcer properties of PGE_2 , 15-methyl PGE_2 , and 16, 16-dimethyl PGE_2 . Intravenous, oral and intrajejunal administration. Gastroenterology (1976) **70**, 359-370.

Studies on gastric mucosal lesions in liver damage

Part 1: An experimental study using rat models

Toru SUGIHARA

The First Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. H. Nagashima)

Gastric mucosal lesions such as gastric ulcers and erosions are frequently observed in patients with liver cirrhosis. Although portal hypertension is suggested to play a role in the development of gastric mucosal lesions, the pathogenesis still remains undisclosed.

Gastric mucosal blood flow (BF), potential difference (PD) and prostaglandin E_2 (PGE_2) were analyzed using both rats with liver injury induced by carbon tetrachloride and rats with portal hypertension induced by incomplete portal occlusion. BF, PD and PGE_2 were lower in the rats with injured liver and with portal hypertension than in control rats. BF and PD were lower in the rats with injured liver than in the rats with portal hypertension.

These results support the view that the impairment of the defensive factors of gastric mucosa represented by BF, PD and PGE_2 play an important role in the pathogenesis of gastric mucosal lesions in rats with injured liver. Portal hypertension was considered to be a factor contributing to the impairment of the defensive factors of gastric mucosa.