

膵管結紮線維化膵に対する膵管再建後の膵内外分泌機能 の変化と Estrogen の効果

三重大学医学部第一外科学教室

(指導：水本龍二教授)

太 田 正 隆

〔原稿受付：平成4年4月14日〕

Effects of Duct Reconstruction and Estrogen Treatment on Endocrine and Exocrine Functions of Fibrotic Pancreas Caused by Ligation of the Pancreatic Duct in Dogs

MASATAKA OHTA

First Department of Surgery, Mie University School of Medicine
(Director: Prof. Dr. Ryuji Mizumoto)

After fibrotic pancreas was produced by ligation of the pancreatic ducts in mongrel dogs, effects of duct reconstruction and estrogen treatment on endocrine and exocrine function of the fibrotic pancreas were investigated.

1) K value in IV-GTT and Σ IRG in IV-ITT were significantly improved after duct reconstruction in group with estrogen treatment, especially K value was significantly improved as compared with that in group without estrogen treatment.

2) Total volume of pancreatic secretion, total amylase output and maximal bicarbonate concentration in P-S tests were improved significantly after duct reconstruction in the group with estrogen treatment, but not significantly improved in the group without estrogen treatment.

3) Histological changes of the islet and pancreatic fibrosis, caused by the pancreatic duct ligation, were also significantly improved after duct reconstruction in the group with estrogen treatment, as compared with those in the group without estrogen treatment.

結 言

れているが、その膵内外分泌機能の変化について詳細に検討した研究は少ない。

膵管が閉塞すると膵は線維化し硬化することが知ら

1966年 Tiscornia ら¹⁸⁾ は、犬の大小膵管を結紮し、

Key words: Glucose tolerance test, Insulin secretion, Pancreatic islet cell, Fibrosis rate of the pancreas, Pancreozymin-Secretin test.

索引語：耐糖能，インスリン分泌，膵島細胞，膵線維化率，Pancreozymin-Secretin 試験。

Present address: First Department of Surgery, Mie University School of Medicine, Tsu, Mie, 514, Japan.

7~46日後に大膵管と十二指腸とを吻合して膵管を再建すると膵外分泌機能が回復することを報告している。一方、1951年 Houssay³⁾ は、ラットの膵広範切除後 estrogen を投与すると、膵ラ氏島の肥大や増生が認められ、estrogen が膵内分泌機能を改善する作用を有することを報告している。そこで本研究では、雑種成犬を用い、実験的に膵管を結紮して線維化膵を作成した後、膵管を再建して経時的に膵の内外分泌機能や組織学的変化を検索し、さらに estrogen を投与してその効果を検討した。

実験材料および方法

体重 7.2~19.6 kg の雑種成犬23頭を雌雄の別なく用いて以下の実験を行った。

1. 実験群の作成 (Fig. 1): 24時間絶食後、Nembutal (25 mg/kg 体重、以下同じ) 静脈麻酔下に開腹し、十二指腸と膵実質との間で膵十二指腸動脈を損傷しないようにして大膵管及び小膵管を二重結紮切離し、膵管の再開通を防ぐためにこの間に大網を挿入して膵管完全結紮犬を作成した。次いで4週後に再開腹し、Tiscornia ら¹⁸⁾ の方法に準じて十二指腸と膵実質との間で結紮切離された大膵管の両端を求め、7-0 Prolene 5~6 針の結節縫合により端々吻合して大膵管を再建した。術後は estrogen (Estradiol benzoate) 1000 U/kg を毎日午後8時に皮下注射した群 (以下E群) 11頭及び estrogen 非投与群 (以下非E群) 12頭に分けて以下の検索を行った。なお術後はいずれの実験群も魚、野菜、米飯などの雑食やドッグフードで飼育し、

消化酵素剤やインスリンなどの膵補助療法は一切施行しなかった。また剖検時に膵を十二指腸とともに摘出し、十二指腸乳頭より60% Urografin を注入し、Softex にて膵管造影を行って膵管の開存を確認し、吻合部の開存が疑わしいものは本研究の対象から除外した。

2. 膵機能検査

A) 膵内分泌機能の検索

1) 経静脈的糖負荷試験 (以下 IV-GTT)

膵管結紮時の正常犬並びに膵管結紮後4週目の膵管再建時、膵管再建後4週目、8週目、12週目のそれぞれ早朝空腹時に採血の後、Nembutal 静脈麻酔下で、体重 1 kg 当り 0.5 g に相当する50%ブドウ糖を末梢静脈より急速に注入し、5, 15, 30, 45, 60, 120分後に対側末梢静脈より採血して血糖値ならびに血清インスリン値 (以下 IRI) を測定し、ブドウ糖注入後120分までの IRI の総和を Σ IRI と表してインスリン分泌能を検索した。さらに O'Sullivan ら¹¹⁾ の基準に従ってK値 (the rate of disappearance of glucose) を算出し、耐糖能の変化を検索した。血糖値は O-toluidine 法を改良した和光社のグルコーステスト、ワコーキットを用い、分光光度計で測定した。また血清中の IRI は、採血後ただちに 4°C で血清を冷却遠心分離した後、-80°C で凍結保存しておき、IRI テストシオノギによる一抗体法により測定した。

2) 経静脈的インスリン負荷試験 (以下 IV-ITT)

IV-GTT と同様に、しかし、これとは日を変えて膵管結紮前ならびに膵管結紮後4週目の膵管再建時、膵

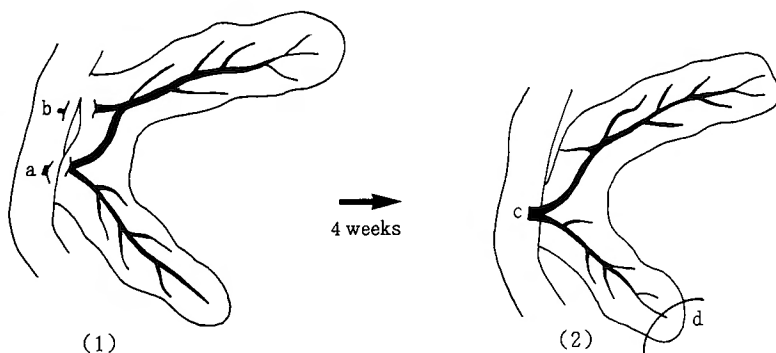


Fig. 1 Experimental model

- (1) As the first operation, major (a) and minor (b) pancreatic ducts were ligated and cut.
- (2) Four weeks later, the ligated major pancreatic duct (c) was reconstructed and then pancreas biopsy (d) was done. From the day of the second operation, Estradiol benzoate (1000 U/kg/day) was daily injected subcutaneously in E group and not done in non-E group.

管再建後4週目, 8週目, 12週目のそれぞれ早朝空腹時に採血の後, Nembutal 静脈麻酔下で, 末梢静脈より 0.2 U/kg 体重のレギュラーインスリンを急速に注入し, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240分後に対側の末梢静脈より採血して血漿中膵性グルカゴン値 (以下 IRG) を測定した. またインスリン注入後240分までの IRG の総和を Σ IRG と表してグルカゴン分泌能を検索した. なお血漿中 IRG は採血後ただちに血液を 1 ml 当り 0.1 ml の EDTA-Aprotinin 液を入れた氷冷試験管に採取して混和し, 4°C で血漿を冷却遠心分離後, -80°C で凍結保存し, グルカゴンリアキッ (ダイナボット社製) による二抗体法で測定した.

B) 膵外分泌機能の検索

1) Pancreozymin-Secretin 試験 (以下 P-S 試験)

膵管結紮前の正常犬ならびに膵管結紮後4週目の膵管再建時, 及び膵管再建後4週目, 8週目, 12週目に24時間絶食後, 早朝空腹時に Nembutal 静脈麻酔下で再開腹し, Sun-Shay¹⁵⁾ の方法に準拠して P-S 試験を行った. すなわち Pancreozymin (エーザイ社製) (1 U/kg 体重) 及び Secretin (エーザイ社製) (1 U/kg 体重) を10分間隔で末梢静脈内にそれぞれ約1分間かけて注入して膵液を採取し, Pancreozymin 投与後10分間に採取した第一分画を P_1 , 次に Secretin 投与後10分間に採取した第2分画を S_1 , 次の10分間の第3分画を S_2 , 次の20分間の第4分画を S_3 , 最後の20分間の第5分画を S_4 とした. また, 総液量 (total volume, 以下 TV) は S_1, S_2, S_3, S_4 の各分画の液量の総和, 総アミラーゼ排出量 (total amylase output, 以下 TAO) は P_1, S_1, S_2, S_3, S_4 の各分画のアミラーゼ排出量の総和とし, また最高重炭酸塩濃度 (maximal bicarbonate concentration, 以下 MBC) は S_1, S_2, S_3, S_4 の重炭酸塩濃度の最高値とした. 血清アミラーゼ値はアミラーゼテストAシオノギにより, 重炭酸塩濃度は Natelson 型微量ガス分析装置により測定した. また TV, TAO は体重 kg 当り, MBC は排水量 1 L あたりに換算して表した. なお膵液の採取にあたっては膵管結紮後4週目では, 萎縮した膵の十二指腸附着部で結紮された大膵管を求め, これよりアトムチューブ6号を挿入して膵液を採取し, また膵管再建後では空腸より十二指腸内に double balloon catheter を挿入し, 大膵管開口部を閉塞せぬようにして balloon を十二指腸内で膨らませ, この間に貯留していた内容を吸引して空虚にした後膵液を採取した.

3. 膵の組織学的検索

膵管結紮前, 膵管結紮後4週目の膵管再建時, 及び膵管再建後12週目の犠牲剖検時に膵尾部の一部を採取し, 10%ホルマリン液で固定後 Azan-Mallory 染色, Hematoxylin-Eosin (以下 H-E) 染色を行って, 膵線維化率, 膵島の大きさの分布, 及び膵島容積比を求め, また一部は Bouin 液にて固定し, Peroxydase-antiperoxydase 法 (PAP 法) により, 膵ラ氏島のB細胞, A細胞, D細胞を染別して検索した. なお PAP 法は DAKO 社製 PAP Kit によった.

A) 膵線維化率

非E群10頭, E群8頭について検索した. すなわち Azan-Mallory 染色後, $18 \times 18 = 324$ 個の交点を有する格子型接眼マイクロメーターを使用し, 200倍で鏡検して at random に50視野をとり, Weibel ら²⁰⁾ の point counting method により膵組織に対する線維組織の容積比を次式により求め膵線維化率を算出した.

$$\text{膵線維化率} = \frac{\sum F}{324 \times n} \times 100$$

(F: 線維組織の point 数, $n=50$)

なお教室の北村⁸⁾ に従って膵管結紮後4週目の膵線維化率が25%以下のものは膵管結紮が不完全と考えられたので, 本研究の対象から除外した.

B) 膵島の大きさ及び容積比

非E群, E群各5頭について検索した. 膵島の大きさについては, H-E 染色後200倍で鏡検して at random に20視野をとり, 接眼マイクロメーターを使用して膵島の長径を計測し, これを, 30 μ m ごとに分類して百分率で表した. 一般に膵島は楕円体であり, 30 μ m 以下のものはこれより大きな膵島の辺縁をみている可能性があるので除外した. 膵島の容積比 (volume density, 以下 VD) は, 格子型接眼マイクロメーターを使用し, Weibel ら²⁰⁾ の point counting method により膵組織に対する容積比として次式により求めた.

$$\text{膵島容積比} = \frac{\sum \text{Lai}}{324 \times n} \times 100$$

(Lai: 膵島の point 数, $n=20$)

C) 膵島各細胞の比率

PAP 法によって膵島各細胞を染別し, 30 μ m 以上の膵島20個よりB細胞, A細胞, D細胞の実数を算出してこれらを百分率で表した. 特にB細胞については細

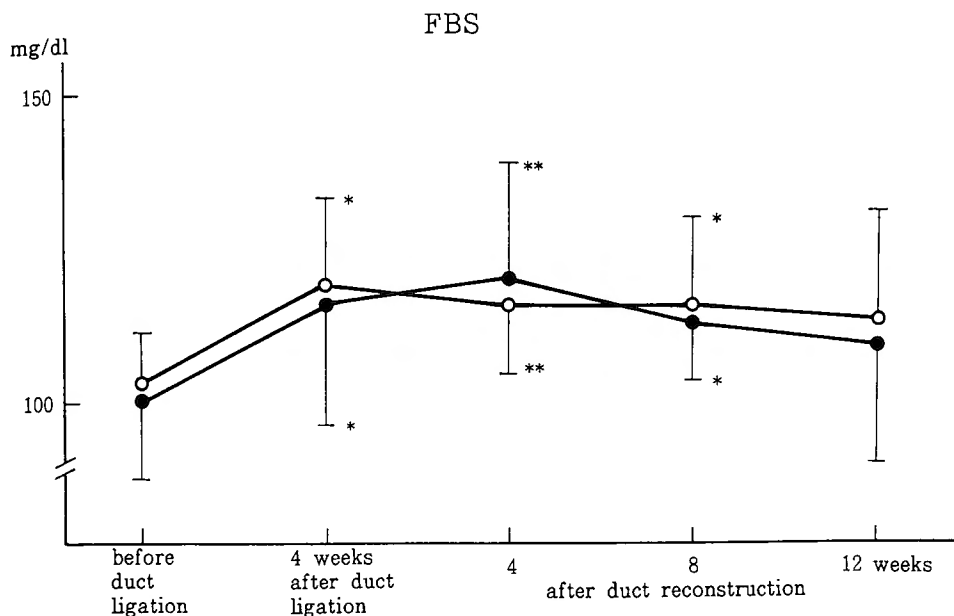


Fig. 2 Changes in Fasting Blood Sugar (FBS)

○ : non-E group (n=12), without estrogen treatment
 ● : E group (n=11), with estrogen treatment after duct reconstruction
 * : $p < 0.05$
 ** : $p < 0.01$ v.s. the value before duct ligation

胞質や核に変化がなく、ほぼ正常と考えられるものを B_0 細胞、細胞質に脱顆粒がみられるが核には変化のないものを B_1 細胞、細胞質が著明な脱顆粒を示して水腫状になり、核も萎縮を示すものを B_2 細胞として B 細胞の変化の程度を表した。

4. 推計学的検討

すべての計測値は平均値±標準偏差 (Mean±SD) で表し、推計学的検討は Student's t-test を用い、危険率5%以下 ($p < 0.05$) を有意と判定した。

実験成績

1. 体重の変化

本研究に用いた膵管結紮前の正常犬の体重は非E群 (n=12) 12.2 ± 2.0 kg, E群 (n=11) 11.4 ± 1.4 kg と両群間に有意差はなく、全体 (n=23) では 11.8 ± 1.7 kg であったが、膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=12) 8.9 ± 1.6 kg, E群 (n=11) 8.3 ± 1.2 kg, 全体 (n=23) では 8.6 ± 1.4 kg といずれも有意 ($p < 0.001$) に減少したが、膵管再建後12週目では非E群 (n=12) 11.6 ± 1.8 kg, E群 (n=11) 11.5 ± 1.4 kg と両群ともほぼ膵管結紮前の体重にまで回復した。

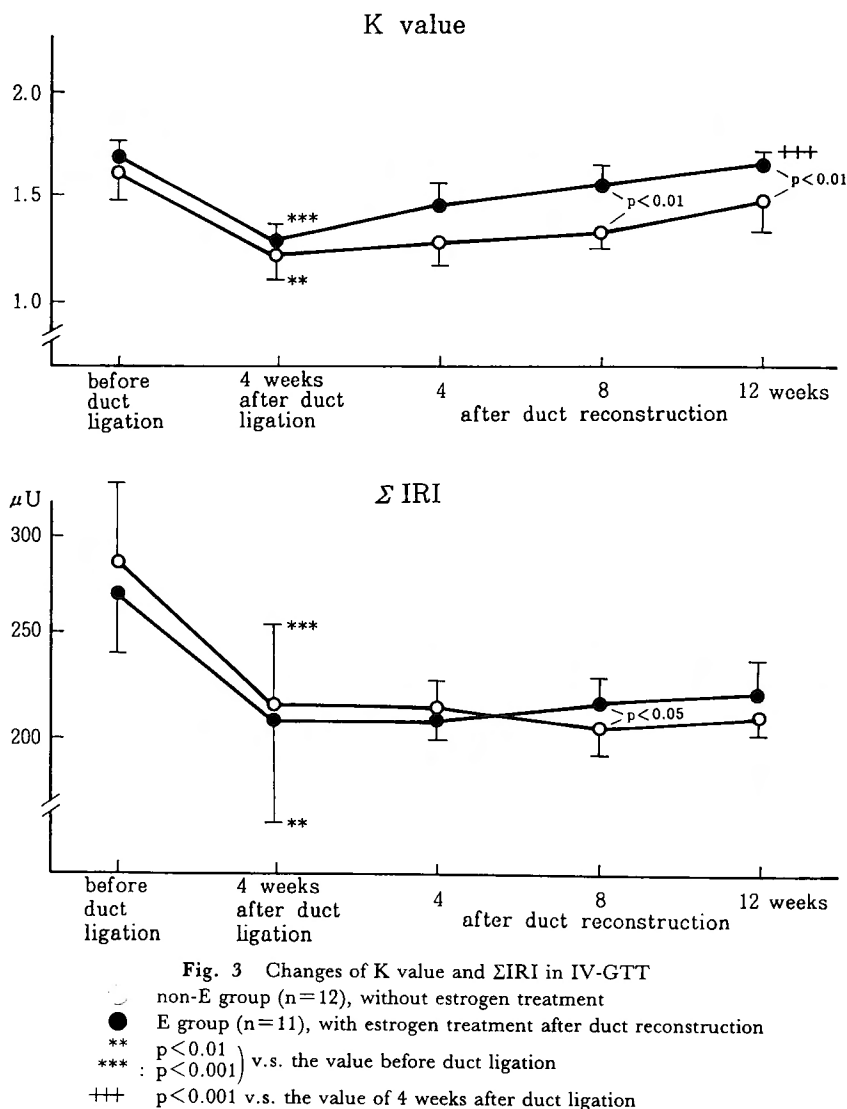
2. 膵内分泌機能の変化

1) 空腹時血糖 (FBS) (Fig. 2)

膵管結紮前の正常犬の FBS は非E群 (n=12) 103.9 ± 8.7 mg/dl, E群 (n=11) 101.8 ± 12.5 mg/dl と両群間に有意差はなく、全体 (n=23) では 102.9 ± 10.5 mg/dl であったが、膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=12) 118.5 ± 16.4 mg/dl, E群 (n=11) 117.9 ± 19.3 mg/dl, 全体 (n=23) では 118.2 ± 17.8 mg/dl といずれも有意 ($p < 0.05$) に上昇した。膵管再建後は、非E群で平均 $117.2 \sim 114.1$ mg/dl, E群では平均 $121.1 \sim 111.2$ mg/dl の値を示したが、いずれも膵管再建時の値との間で有意差はなく、また膵管結紮前との間では両群とも膵管再建後4週目、8週目でそれぞれ有意 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) に高値を示したが、いずれの時期でも両群間に有意差は認められなかった。

2) IV-GTT における K 値並びに Σ IRI の変化 (Fig. 3)

K 値は膵管結紮前の正常犬では非E群 (n=12) 1.59 ± 0.29 , E群 (n=11) は 1.63 ± 0.10 と差なく、全体 (n=23) では 1.61 ± 0.20 であったが、膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=12) 1.20 ± 0.27 , E群



(n=11) 1.26 ± 0.10 , 全体 (n=23) では 1.23 ± 0.19 と膵管結紮前の値に比しいずれも有意 ($p < 0.01$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) に低下した。一方, 膵管再建後は回復の傾向を示し, 12週目の非E群 (n=12) では 1.40 ± 0.27 と膵管再建時に比し改善傾向 ($p < 0.1$) を示したが, E群 (n=11) では 1.66 ± 0.10 と膵管再建時に比べ有意 ($p < 0.001$) の著明な改善を示し, 膵管結紮前の値にまで回復した。なお膵管再建後8週目及び12週目では非E群とE群との間に有意差 ($p < 0.01$) が認められた。

同様に Σ IRI についてみても, 膵管結紮前では非E群 (n=12) $285.3 \pm 43.0 \mu\text{U}$, E群 (n=11) $277.3 \pm 32.2 \mu\text{U}$ と差がなく, 全体 (n=23) では $281.5 \pm 37.8 \mu\text{U}$ であったが, 膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=12) $212.8 \pm 40.9 \mu\text{U}$, E群 (n=11) $208.1 \pm 52.1 \mu\text{U}$, 全体 (n=23) では $210.6 \pm 46.3 \mu\text{U}$ といずれも有意 ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) に低下した。膵管再建後も両群とも有意の改善を認めなかったが, 膵管再建後8週目では非E群 (n=12) は $205.1 \pm 14.0 \mu\text{U}$, E群 (n=11) では $218.4 \pm 11.4 \mu\text{U}$ とE群の方が非E群に比

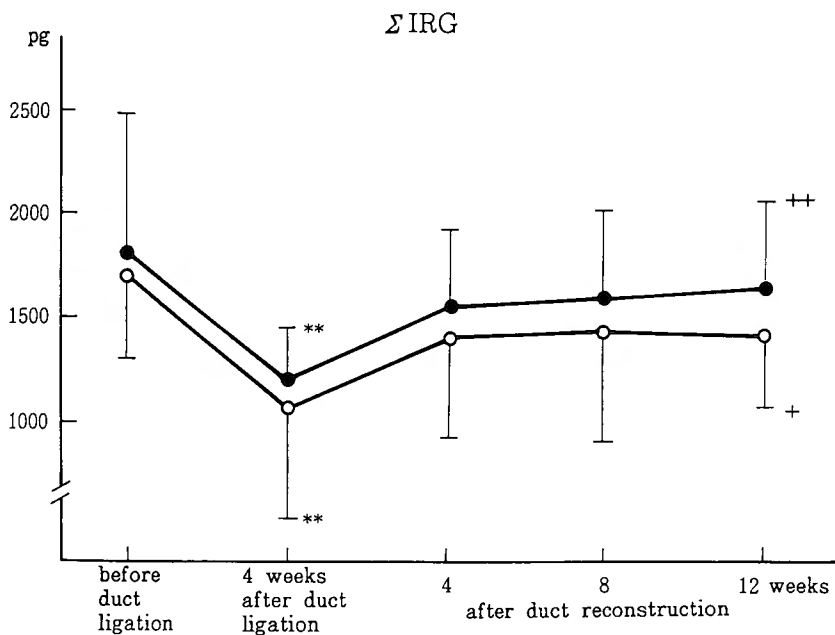


Fig. 4 Changes of ΣIRG in IV-ITT

○ : non-E group (n=12), without estrogen treatment

● : E group (n=11), with estrogen treatment after duct reconstruction

 ** : $p < 0.01$ v.s. the value before duct ligation

 + : $p < 0.05$ v.s. the value of 4 weeks after duct ligation

 ++ : $p < 0.01$ v.s. the value of 4 weeks after duct ligation

し有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。

3) IV-ITT における ΣIRG (Fig. 4)

ΣIRG は膵管結紮前の正常犬では非E群 (n=12) 1720 ± 441 pg, E群 (n=11) 1861 ± 631 pg と差なく, 全体 (n=23) では 1787 ± 532 pg であったが, 膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=12) 1011 ± 504 pg, E群 (n=11) 1195 ± 269 pg, 全体 (n=23) では 1099 ± 392 pg といずれも有意 ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) に低下し, 膵管再建後は両群とも改善を示し, 12週目では非E群 (n=12) 1463 ± 348 pg, E群 (n=11) 1648 ± 427 pg となり, いずれも膵管結紮後4週目の膵管再建時に比し有意 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) に改善を示した。しかし, 膵管再建後いずれの時期においても両群間には有意差を認めなかった。

3. 膵内分泌機能の変化

1) 総液量 (TV) (Fig. 5)

総液量 (TV) は, 膵管結紮前の正常犬では非E群 (n=12) 1.93 ± 0.57 ml/kg, E群 (n=11) 2.21 ± 0.38 ml/kg と有意差なく, 全体 (n=23) では 2.06 ± 0.48 ml/kg で

あったが, 膵管結紮後4週目の膵管再建時には, 非E群 (n=12) 1.41 ± 0.50 ml/kg, E群 (n=11) 1.61 ± 0.25 ml/kg, 全体 (n=23) では 1.51 ± 0.38 ml/kg といずれも有意 ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) に低下し, 膵管再建後は次第に増加して12週目では非E群 (n=12) 1.74 ± 0.24 ml/kg を示したが有意の増加ではなく, E群 (n=11) では 1.83 ± 0.15 ml/kg と膵管結紮後4週目の膵管再建時に比し有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。しかし膵管再建後のいずれの時期においても両群間に有意差は認められなかった。

2) 総アミラーゼ排出量 (TAO) (Fig. 5)

総アミラーゼ排出量 (TAO) は, 膵管結紮前の正常犬では非E群 (n=12) 792 ± 215 IU/kg, E群 (n=11) 751 ± 139 IU/kg と差なく, 全体 (n=23) では 772 ± 179 IU/kg であり, 膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=12) 433 ± 130 IU/kg, E群 (n=11) 377 ± 159 IU/kg, 全体 (n=23) では 406 ± 144 IU/kg といずれも有意 ($p < 0.001$) に低下したが, 膵管再建後はE群 (n=11) では4週目ですでに 733 ± 183 IU/kg, 8週目

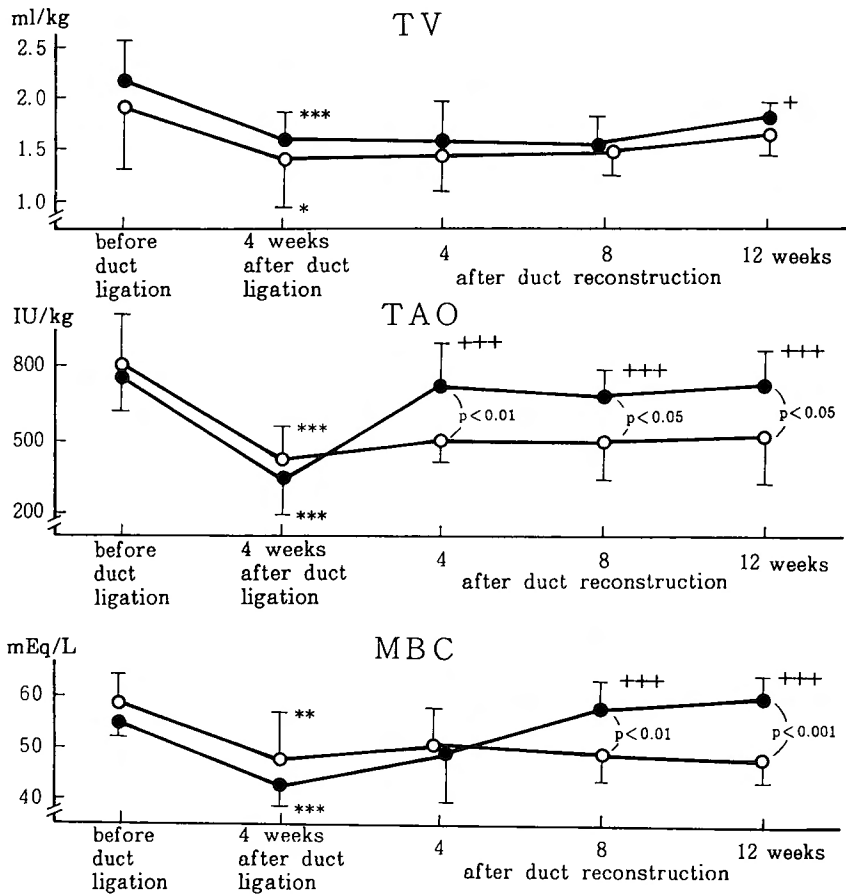


Fig. 5 Changes of exocrine pancreatic functions in P-S test
○ : non-E group (n=12), without estrogen treatment
● : E group (n=11), with estrogen treatment after duct reconstruction
* : $p<0.05$
** : $p<0.01$
*** : $p<0.001$ } v.s. the value before duct ligation
+ : $p<0.05$
+++ : $p<0.001$ } v.s. the value of 4 weeks after duct ligation

では 680 ± 110 IU/kg, 12週目では 737 ± 128 IU/kg といずれも有意 ($p<0.001$) の著明な改善を示したが、非E群 (n=12) では有意の改善はみられず、膵管再建後12週目でも 553 ± 178 IU/kg であって、膵管再建後いずれの時期においても、E群では非E群よりも有意 ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$) に高値を示した。

3) 最高重炭酸塩濃度 (MBC) (Fig. 5)
最高重炭酸塩濃度 (MBC) についてみても、膵管結紮前の正常犬では非E群 (n=12) 58.7 ± 6.2 mEq/L, E群 (n=11) 55.3 ± 2.0 mEq/L と差なく、全体 (n=23) では 57.1 ± 4.2 mEq/L であったが、膵管結紮後4週目

の膵管再建時には非E群 (n=12) 48.5 ± 8.8 mEq/L, E群 (n=11) 44.5 ± 4.1 mEq/L, 全体 (n=23) では 46.6 ± 6.6 mEq/L といずれも有意 ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$) に低下した。膵管再建後は非E群では殆ど変化なく12週目 (n=12) でも 49.2 ± 6.2 mEq/L であり、膵管再建時に比し有意の変化は認められなかった。一方、E群 (n=11) では膵管再建後4週目より改善を示し、8週目では 59.0 ± 5.1 mEq/L, 12週目では 61.7 ± 4.4 mEq/L となって、膵管再建時に比しいずれも有意 ($p<0.001$) に改善し、かつ非E群と比べても有意 ($p<0.01$, $p<0.001$) に良好な値を示した。

Table Changes of TAO (IU/kg) in P-S test on male and female

Group		before duct ligation	4 weeks after duct ligation	after duct reconstruction		
				4	8	12 wks
non-E group	male (n=5)	803 ± 229	410 ± 138	538 ± 126	525 ± 141	547 ± 191
	female (n=7)	784 ± 205	449 ± 124	545 ± 103	542 ± 167	558 ± 169
E group	male (n=6)	759 ± 129	389 ± 177	740 ± 195	688 ± 123	743 ± 136
	female (n=5)	741 ± 151	363 ± 138	725 ± 169	652 ± 94	730 ± 118

(* : $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

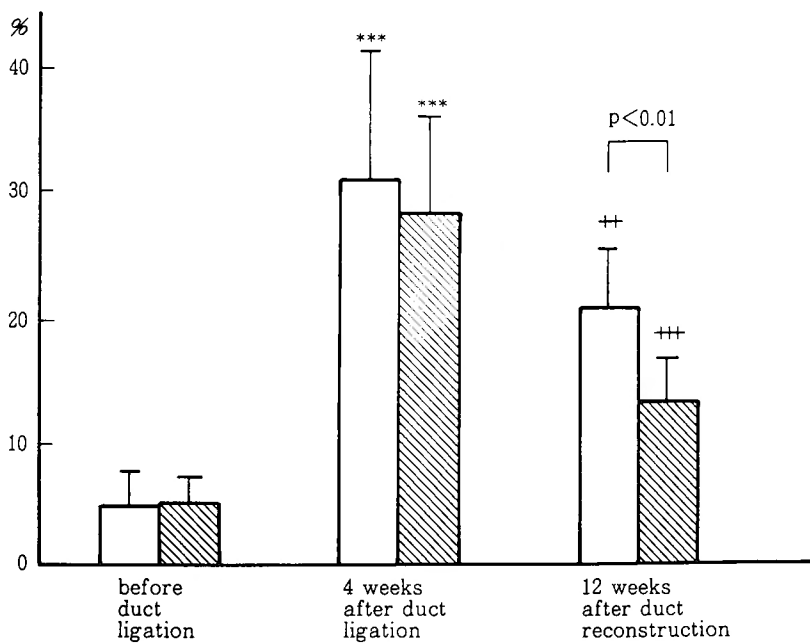


Fig. 6 Changes in fibrosis rate of the pancreas

- non-E group (n=10), without estrogen treatment
 E group (n=8), with estrogen treatment after duct reconstruction
 *** : $p < 0.001$ v.s. the value before duct ligation
 ++ : $p < 0.01$ v.s. the value of 4 weeks after duct ligation
 +++ : $p < 0.001$ v.s. the value of 4 weeks after duct ligation

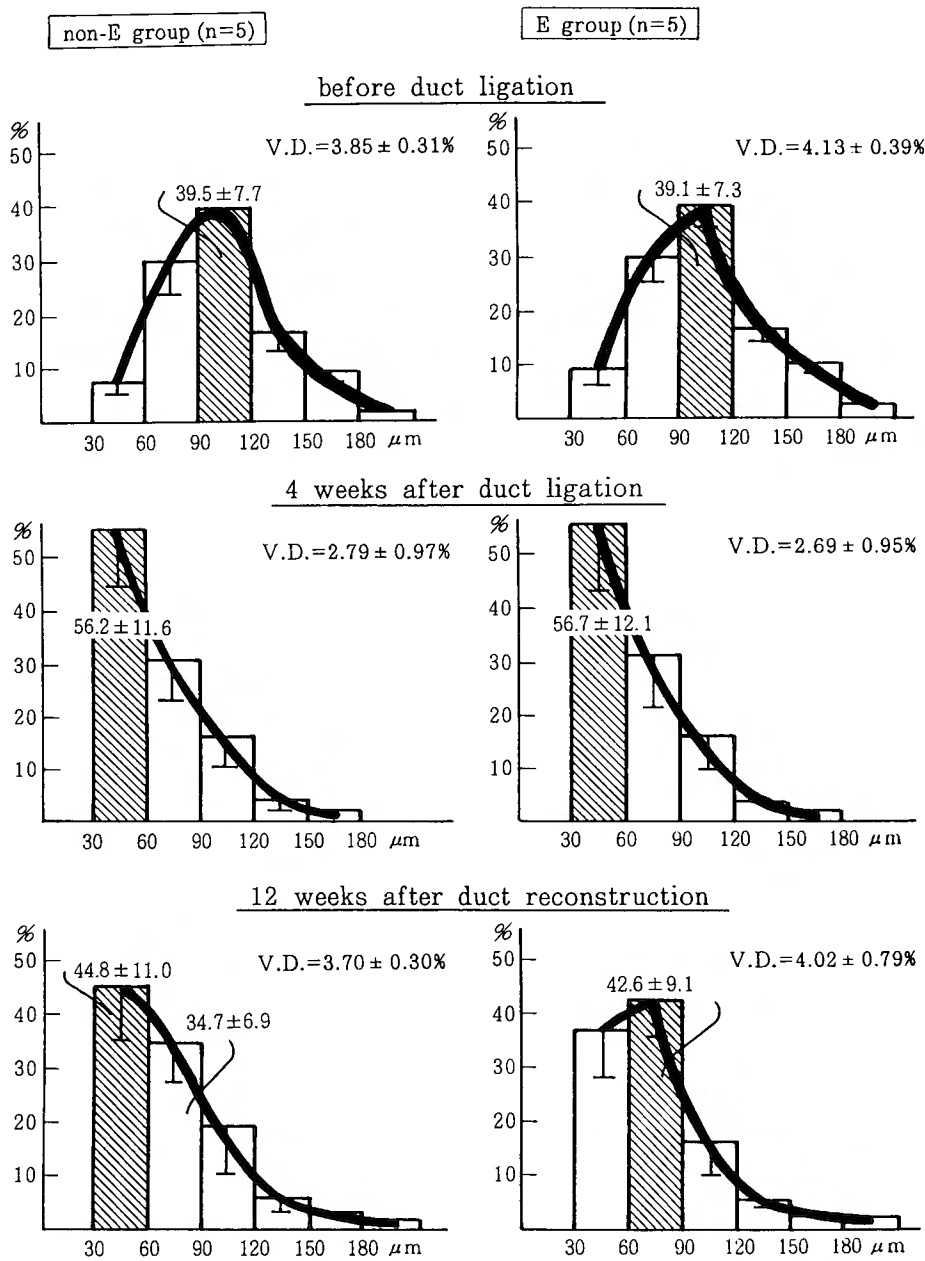


Fig. 7 Changes in volume density and distribution of diameter of the pancreatic islets

4) 雌雄差
P-S 試験の各因子について、非E群、E群のそれぞれで雌雄別に検討してみたが雌雄間では有意差は認められず、estrogen の投与により最も明確に有意の変化が認められた TAO についてみても (Table), 非E群で

は膵管結紮前の雄 (n=5) で 803±229 IU/kg, 雌 (n=7) では 784±205 IU/kg であり、膵管結紮後4週目の膵管再建時では雄 (n=5) 410±138 IU/kg, 雌 (n=7) 449±124 IU/kg といずれも有意 (p<0.05, p<0.01) に低下したが雌雄間では差はなかった。膵管

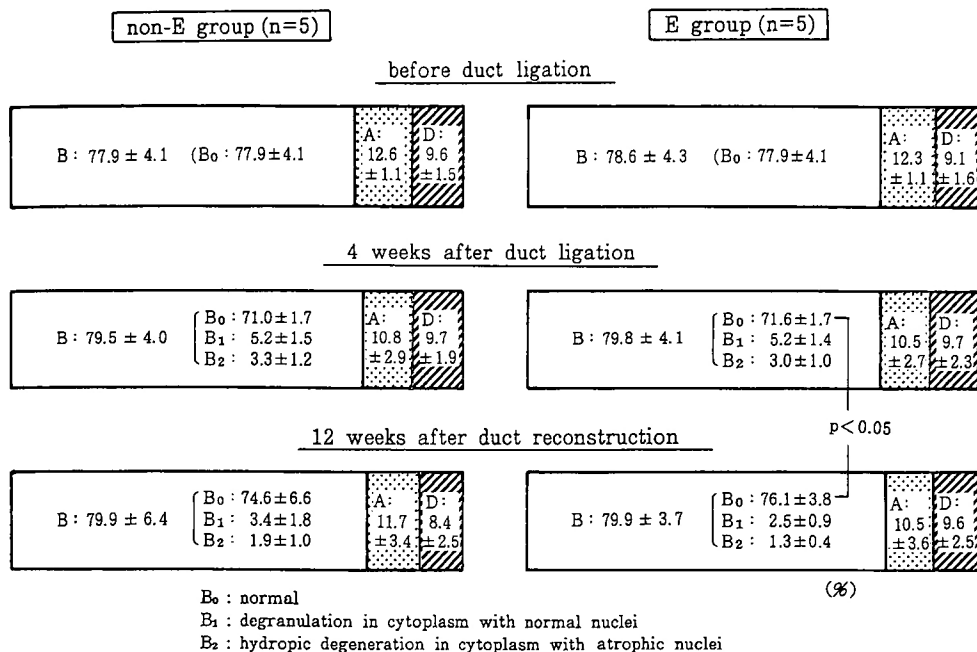


Fig. 8 Changes in distribution of B, A and D cells in the pancreatic islets

再建後は雌雄とも回復に向い、12週目では雄 (n=5) 547 ± 191 IU/kg, 雌 (n=7) 558 ± 169 IU/kg を示したがいずれの時期においても雌雄間で有意差は認められなかった。E群についても同様で、膵管結紮前では雄 (n=6) 759 ± 129 IU/kg, 雌 (n=5) 741 ± 151 IU/kg, 膵管結紮後4週目の膵管再建時には雄 (n=6) 389 ± 177 IU/kg, 雌 (n=5) 363 ± 138 IU/kg といずれも有意 (p < 0.01) に低下し、膵管再建後は雌雄とも回復に向い、特に12週目では雄 (n=6) 743 ± 136 IU/kg, 雌 (n=5) 730 ± 118 IU/kg と膵管再建時に比しいずれも有意 (p < 0.01) に改善したがいずれの時期においても雌雄間で有意差は認められなかった。

4. 膵の組織学的変化

1) 膵線維化率 (Fig. 6)

膵管結紮前の正常犬の膵線維化率は非E群 (n=10) 4.7 ± 2.9%, E群 (n=8) 4.9 ± 2.0%, 全体 (n=18) では 4.8 ± 2.5% であったが、膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=10) 31.2 ± 10.5%, E群 (n=8) 29.0 ± 6.7%, 全体 (n=18) では 30.2 ± 8.8% となつていずれも有意 (p < 0.001) の、かつ著明な線維化率の増加が認められた。膵管再建後12週目では非E群 (n=10) 21.0 ± 4.8%, E群 (n=8) 13.2 ± 3.6% と線維化

率の有意 (p < 0.01, p < 0.001) の減少を認め、その改善率は、膵管再建時に比し非E群では 32.7%, E群では 54.5% とE群の方が良好な回復を示し、両群間でも有意差 (p < 0.01) が認められた。

2) 膵島の変化

膵島容積比 (VD) についてみると (Fig. 7), 膵管結紮前の正常犬では非E群 (n=5) 3.85 ± 0.31%, E群 (n=5) 4.13 ± 0.39% であったものが、膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群 (n=5) 2.79 ± 0.97%, E群 (n=5) 2.69 ± 0.95% とそれぞれ有意 (p < 0.05) に減少して両群とも同様の変化を示した。膵管再建後12週目の非E群 (n=5) では 3.70 ± 0.30% と回復がみられたが膵管再建時に比し有意差はなく、E群 (n=5) では 4.02 ± 0.79% と膵管再建時よりも有意 (p < 0.05) に増加して良好な回復を示した。

膵島の長径の分布をみると (Fig. 7), 膵管結紮前では非E群 (n=5), E群 (n=5) とともに 90 ~ 120 μm の大きさのものの頻度が最も高く、それぞれ 39.5 ± 7.7%, 39.1 ± 7.3% を占めたのに対し、膵管結紮後4週目の膵管再建時には 30 ~ 60 μm の小型のものが非E群 (n=5) で 56.2 ± 11.6%, E群 (n=5) でも 56.7 ± 12.1% と大半を占め、全体に小型化した。しかし膵管再建後

12週目の非E群 ($n=5$) では $30\sim 60\ \mu\text{m}$ の小型のものが $44.8\pm 11.0\%$ と膵管再建時に比し少なくなり、 $60\sim 90\ \mu\text{m}$ のものが $34.7\pm 6.9\%$ とやや増加した。一方、E群 ($n=5$) では $60\sim 90\ \mu\text{m}$ のものが $42.6\pm 9.1\%$ と最も多く、膵島は膵管再建時に比し大型化した。

3) 膵島細胞の変化

膵ラ氏島 B, A, D 細胞の比率を膵管結紮前の正常犬、膵管結紮後4週目の膵管再建時、及び膵管再建後12週目のそれぞれ非E群 ($n=5$) とE群 ($n=5$) についてみると (Fig. 8)、膵管結紮前に比し、膵管結紮後4週目の膵管再建時には前述の膵島容積比や長径の変化で示されているように膵島は数が減少し、かつ小型化して各細胞数は全体に減少し、染色性も乏しくなったが、B細胞の比率は非E群 $79.5\pm 4.0\%$ 、E群 $79.8\pm 4.1\%$ と膵管結紮前の正常犬のそれぞれ $77.9\pm 4.1\%$ 、 $78.6\pm 4.3\%$ と差はなく、膵管再建後12週目でも非E群 $79.9\pm 6.4\%$ 、E群 $79.9\pm 3.7\%$ とB細胞の比率には著明な変化は認められず、A, D 細胞の比率も同様に著明な変化は認められなかった。しかしB細胞の細胞質や核の変化をみると、膵管結紮前では全てが B_0 細胞であったが、膵管結紮後4週目の膵管再建時には非E群では B_0 細胞が $71.0\pm 1.7\%$ 、 B_1 細胞 $5.2\pm 1.5\%$ 、 B_2 細胞 $3.3\pm 1.2\%$ と細胞の変性を示すものが認められ、E群でも同様に B_0 細胞 $71.6\pm 1.7\%$ 、 B_1 細胞 $5.2\pm 1.4\%$ 、 B_2 細胞 $3.0\pm 1.0\%$ となった。しかるに膵管再建後12週目では、非E群では B_0 細胞 $74.6\pm 6.6\%$ 、 B_1 細胞 $3.4\pm 1.8\%$ 、 B_2 細胞 $1.9\pm 1.0\%$ と変性したB細胞が減少したが有意の変化ではなかった。一方、E群では B_0 細胞 $76.1\pm 3.8\%$ 、 B_1 細胞 $2.5\pm 0.9\%$ 、 B_2 細胞 $1.3\pm 0.4\%$ と変性したB細胞はさらに減少し、E群における膵管再建後12週目の B_0 細胞の比率は膵管結紮後4週目の膵管再建時に比し有意 ($p<0.05$) に増加した。

考 察

膵臓は肝臓とは異なり再生能は極めて乏しいと考えられてきた。しかし、1941年 Friedman ら³⁾ はラットの膵部分切除後に膵島の増生とB細胞の腫大を認め、膵島が再生する可能性のあることを報告した。膵島の再生の可能性は、臨床的に膵臓癌による膵管閉塞のため膵組織の線維化や膵内外分泌機能の低下した症例の膵切除範囲の決定、或いは膵切除後の膵機能改善の予測においても重要であり、また慢性膵炎では膵組織の再生を考慮した新たな治療法の開発に期待が持たれる。

1951年 Houssay⁵⁾ はラットの膵広範切除後に estrogen を投与すると、膵ラ氏島の肥大及び増生により糖尿病の発生が抑制されることを報告し、estrogen が膵内分泌機能の改善に有効であることを指摘した。さらに1979年 Tesone ら¹⁶⁾ はラットに estrogen を投与すると膵島細胞の DNA 複製が増加し、膵内分泌機能の改善に役立つと報告した。これらはいずれも、膵再生とくに膵内分泌機能に対する estrogen の効果を示したものであるが、いずれもラットなどの小動物を用いた研究であり、犬などの大動物の膵内分泌機能に対する estrogen の効果に関する研究は少ない。

一方、膵外分泌機能に関しては、1966年 Tiscornia ら¹⁸⁾ は犬の膵管結紮後7～46日目に大膵管と十二指腸とを吻合して膵管を再建した結果、4ヵ月以内に形態的に膵腺線維化の減少や膵再生が認められ、機能的にも P-S 試験にて重炭酸塩やアミラーゼ排出能の著明な改善を認め、膵外分泌機能が回復したと報告した。

岡¹⁰⁾ も、犬の膵管結紮後5週以上経過すると小葉構造がまったく識別できなくなり、組織の廃絶のため膵外分泌機能の改善は期待できなくなるが、3週以内に膵腸吻合を施行すれば明らかに膵腺房細胞は増生し、部位によっては全く結合組織の増生が認められなくなるまでに回復すると述べている。本研究では、犬の膵管結紮後4週目に大膵管を再建し、その後の膵内外分泌機能の変化を経時的に検索して、estrogen 投与の効果を検討した。すなわち、Houssay⁵⁾ がラットで明らかにした膵内分泌機能に対する estrogen の効果が犬の如き大動物で、しかも膵管結紮により線維化した膵でも認められるかどうかを検索した。その結果、膵管再建後 estrogen を投与することにより、IV-GTT の K 値や IV-ITT の ΣIRG は有意に改善し、特に K 値は、E群では、非E群に比べ有意に良好な値を示した。さらに膵外分泌機能についてみても、E群では P-S 試験の3因子とも有意の改善を示し、特に TAO 及び MBC は非E群に比し有意に良好な値を示した。Tiscornia ら¹⁸⁾ も膵管再建後、膵外分泌機能の改善を認めているが、本研究では estrogen を投与することによって、膵外分泌機能は一層良好な回復を示すことが明らかにされた。また組織学的に膵組織化率の変化をみると、膵管再建後には非E群でも有意の改善が認められたが、E群では一層良好な改善が認められ、非E群との間に有意差が認められた。同様に膵島容積比や膵島長径の分布をみてもE群の方が良好な改善を示した。また膵島 B, A, D 細胞の比率については両群間に有意差はな

かったが、E群ではB細胞の変性が少なかった。

近年膵に対する種々の trophic factor の研究が行われており CCK-PZ, gastrin, secretin, caerulein⁶⁾, cortisone⁹⁾, growth hormone¹⁾, glucagon¹⁹⁾ などが知られているが、1979年 Sandberg ら¹³⁾ は犬を用いた実験で、膵腺房細胞に estrogen receptor が存在し、estrogen の投与により膵腺房細胞が刺激されて膵外分泌機能の改善が認められたと報告している。また、1986年 Tiscornia ら¹⁷⁾ もラットに estrogen を投与すると膵腺房細胞が刺激されて zymogen 顆粒が増加し、膵液の基礎分泌量が亢進することを報告しており、その作用機序として、直接的には estrogen が膵腺房細胞内の estrogen receptor を刺激し、間接的には estrogen が膵ラ氏島B細胞の insulin 分泌を促進して CCK-PZ の活性を高める可能性を示唆している。すなわち estrogen が直接的、間接的に膵再生を促し trophic effect を発揮するものと考えられる。さらに Beaudoin ら²⁾ は、膵外分泌組織に対する estrogen の効果は副腎が関与していることを示唆している。教室の島村¹⁴⁾ はまた、犬の膵広範切除後に estrogen を投与すると、下垂体前葉の酸性細胞及び prolactin 分泌細胞が増加し、これにより膵島B細胞の増加とインスリン分泌の亢進が招来されて残存膵腺房細胞の増殖、肥大が促進されることを示している。Kato⁷⁾ はまた estrogen が中枢神経系において、下垂体前葉及び視床下部にある estrogen receptor に作用し、その結果 growth hormone の分泌が増加し insulin 分泌を亢進させ、これによりB細胞が増殖し、膵再生を促進すると報告している。さらに Fujita⁴⁾ は、ウマの膵臓を観察して、膵島一腺房門脈系を介して insulin が膵腺房細胞に作用し膵外分泌機能にも好影響を及ぼしていると述べている。本研究において観察された estrogen 投与による膵内外分泌機能の改善、特に TAO の回復が良好であったのもこれらの結果と考えられる。

結 語

雑種成犬を用い大小の膵管を結紮切離して線維化膵を作成し、4週後に大膵管のみを再建して以後4週毎12週目まで膵の内外分泌機能並びに形態的变化を検索し、これらに対する estrogen の効果を検討して以下の結果を得た。

1) 膵内分泌機能：全経過を通じて estrogen 投与の有無で空腹時血糖値には有意の変化を認めなかった。IV-GTT におけるK値は膵管再建後E群では有意に改

善し、非E群では回復は不良であって、膵管再建後8週目及び12週目ではE群は非E群に比し有意に良好な値を示した。ΣIRI は両群とも膵管再建後も有意の改善を認めなかったが、8週目ではE群の方が非E群に比し有意に良好な値を示した。IV-ITT におけるΣIRG は膵管再建時に比し、膵管再建後12週目では両群とも有意に改善したが両群間に差は認められなかった。

2) 膵外分泌機能：膵管再建後E群では P-S 試験の3因子とも有意の回復を示したが非E群では有意の改善は認められず、特に TAO 及び MBC はE群では非E群に比し有意に良好な値を示した。

3) 組織学的変化：膵線維化率、膵島容積比、膵島長径の分布、B細胞の変化のいずれも非E群よりもE群の方が良好な改善を示し、特に膵線維化率は非E群の改善率が32.7%であったのに対しE群では54.5%と良好な改善を示した。

以上、estrogen が膵管結紮後の線維化膵に対し trophic effect を有するという結果が得られた。

稿を終えるにあたり、御指導、ご校閲を賜った水本龍二教授に深甚なる謝意を表するとともに、始終御指導を賜った世古口務博士並びに御協力をいただいた三重大学第一外科研究室の諸先生に感謝致します

なお本論文の要旨は第28回日本糖尿病学会総会及び第71回日本消化器病学会総会において発表した。

文 献

- 1) Bates RW, Scow RO, Lacy PE: Induction of permanent diabetes in rats by pituitary hormones from a transplantable mammotropic tumor. Concomitant changes in organ weights and the effect of adrenalectomy. *Endocrinol* 78: 826-836, 1966.
- 2) Beaudoin AR, Grondin G, St-Jean P, et al: Steroids and the secretory function of the exocrine pancreas. *Endocrinol* 119: 2106-2117, 1986.
- 3) Friedman NB, Marble A: Island hyperplasia in the partially depancreatized rat. *Endocrinol* 29: 577-582, 1941.
- 4) Fujita T: Insulo-acinar portal system in the horse pancreas. *Arch Histol Jap* 35: 161-171, 1973.
- 5) Houssay BA: Action of sex hormones on experimental diabetes. *Br Med J* Sep 1: 4730-4735, 1951.
- 6) Johnson LR: Effects of gastrointestinal hormones on pancreatic growth. *Cancer* 47: 1640-1645, 1981.

- 7) Kato J: Hormone receptors in brain, hypothalamus and hypophysis. In: Receptors and hormone action. Chapter 12, ed. by Pasqualini, J.R. Marcel Dekker, New York, 1977, 559-612.
- 8) 北村 純: 膵広範切除後の糖代謝の研究, 特に膵管閉塞線維化膵について. 日外会誌 89: 72-83, 1988.
- 9) Like AA, Chick WL: Pancreatic beta cell replication induced by gluco-corticoids in subhuman primates. Am J Pathol 75: 329-341, 1974.
- 10) 岡 洋子: 硬変膵の吻合に関する実験的研究. 和歌山医学 12: 1059-1070, 1961.
- 11) O'Sullivan JB, Snyder PJ, Sporer AC, et al: Intravenous glucose tolerance test and its modification by pregnancy. J Clin Endocrinol 31: 33-37, 1970.
- 12) Sandberg AA, Rosenthal HE: Steroid receptors in exocrine glands: the pancreas and prostate. J Steroid Biochem 11: 293-299, 1979.
- 13) 島村栄員: 膵広範切除後の膵内外分泌能ならびに膵再生に及ぼす estrogen の効果とその作用機序に関する実験的研究. とくに下垂体前葉における prolactin 分泌の関与について, 膵臓 5: 483-495, 1990.
- 14) Sun DCH, Shay H: Pancreozymin-secretin test, the combined study of serum enzymes and duodenal contents in the diagnosis of pancreatic disease. Gastroenterol 38: 570-581, 1960.
- 15) Tesone M, Chazenbalk GD, Ballejos G, et al: Estrogen receptor in rat pancreatic islets. J Steroid Biochem 11: 1309-1314, 1979.
- 16) Tiscornia OM, Cresta MA, Celener D, et al: Estrogen effects on basal bile-pancreatic secretion and the exocrine-endocrine pancreatic gland in the rat. Mt Sinai J Med 53: 462-469, 1986.
- 17) Tiscornia OM, Dreiling DA: Recovery of pancreatic exocrine secretory capacity following prolonged ductal obstruction. Ann Surg 164: 267-270, 1966.
- 18) Volk BW, Lazarus SS: Studies on the diabetogenic action and the site of origin of glucagon. Diabetes 9: 53-62, 1960.
- 19) Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF: Practical stereological method for morphometric cytology. J Cell Biol 30: 23-37, 1966.