

# Experimental Studis on Simple Cold Storage of the Canine Pancreas -Effect of Prostaglandin I2(PGI2) on the Viability of the Preserved Pancreas-

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/2297/7801">http://hdl.handle.net/2297/7801</a>

## 膵単純冷却保存に関する実験的研究

- Prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) の保存膵 viability に及ぼす効果 -

金沢大学医学部第二外科学講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

清水 康 一

(昭和60年5月16日受付)

単純冷却保存膵の viability に及ぼすプロスタグランジン I<sub>2</sub> (prostaglandin I<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) の効果について研究した。雑種成犬を用いて、保存膵による部分膵自家移植モデルでの移植成績、保存膵の組織中 adenine nucleotides (adenosine triphosphate, ATP; adenosine diphosphate, ADP; adenosine monophosphate, AMP) と cyclic nucleotides (cyclic 3'-5' adenosine monophosphate, cAMP; cyclic 3'-5' guanosine monophosphate, cGMP) 含量ならびに電顕所見について検討した。膵保存方法は、摘出膵をただちに灌流保存液として用いた Collins'M 液で灌流後、同液中に浸漬して 0°C に保つ単純冷却保存によった。部分膵自家移植は、新鮮膵移植群 (対照群)、24 時間保存膵移植群 (CM-24 群)、48 時間保存膵移植群 (CM-48 群)、PGI<sub>2</sub> (2 μg/ml) を添加した灌流保存液による 24 時間保存膵移植群 (PG-24 群)、同じく 48 時間保存膵移植群 (PG-48 群) の 5 群を作製し行った。移植後 7 日目までの生存率では、PG-24 群と対照群との間に差は認めなかったが、他の 3 群は対照群にくらべ劣っていた。preservation failure は、CM-24 群、CM-48 群では各々 33%、25% の頻度で認められたが、PG-24 群、PG-48 群では 1 例も認められなかった。対照群と PG-24 群では移植後 1 日目に高インスリン血症がみられた。移植後血清アミラーゼ値は全群上昇したが、保存膵移植群でより高値であった。しかも、PGI<sub>2</sub> 使用群より非使用群で高い傾向を示した。保存膵の組織中 adenine nucleotides, cyclic nucleotides 含量の測定および電顕的検索は、PGI<sub>2</sub> を使用せず単純冷却保存した群 (CM 群)、PGI<sub>2</sub> 添加 (2 μg/ml) 灌流保存液を用いて単純冷却保存した群 (PG 群) を作製して行った。PG 群における 24 時間および 48 時間保存膵の組織中 ATP 含量は CM 群にくらべいずれも有意に高値を示した。また、24 時間、48 時間保存膵組織中の total adenine nucleotides も PG 群で有意に高値を示した。一方、cAMP 含量、cGMP 含量では両群間に有意な差を認めなかった。48 時間保存膵の電顕所見では、PG 群の腺房細胞やランゲルハンス島 (ラ島) 細胞に著明な変化を見なかったが、CM 群の一部の腺房細胞には粗面小胞体にび慢性の拡張が見られ、また一部の B 細胞に細胞内水腫が見られた。以上より、PGI<sub>2</sub> は膵単純冷却保存に有効であると考えられた。

**Key words** pancreatic autotransplantation, simple cold storage, prostaglandin I<sub>2</sub>, cytoprotective effect

重症糖尿病患者に対する治療として、インスリンの注射療法が行われているが、インスリンによる血糖のコントロールでは、網膜症、腎症、神経症などの糖尿病合併症は防ぎ得ない。そのため、近年、膵臓移植が検討されている。しかし、その臨床成績は未だ満足

すべきものではなく、膵管処理法や免疫抑制など解決されるべき多くの問題点を残している。

ところで、臓器保存に際し、虚血による組織障害を少なくすることも重要な問題のひとつである。膵には内分泌細胞と外分泌細胞の 2 種類の細胞が存在し、後

Abbreviations: ADP, adenosine diphosphate; AMP, adenosine monophosphate; ATP, adenosine triphosphate; cAMP, cyclic 3'-5' adenosine monophosphate; cGMP, cyclic 3'-5' guanosine monophosphate; GOF, gas-oxygen-fluothane; PGI<sub>2</sub>, prostaglandin I<sub>2</sub>; RIA, radioimmunoassay; TAN, total adenine nucleotides.

者には消化酵素が多量に含まれており、その保存条件には困難な問題が多く、未だ脾保存方法は確立されていない。

最近、プロスタグランジン<sub>I<sub>2</sub></sub> (prostaglandin I<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) の持つ細胞保護作用 (cytoprotective effect) が注目されている<sup>2)~4)</sup>。そこで著者は、PGI<sub>2</sub>を用いて保存脾 viability に及ぼす効果を検索した。すなわち、イヌ部分脾自家移植モデルで、PGI<sub>2</sub>を使用した保存脾の移植成績を検討した。ついで、PGI<sub>2</sub>の細胞保護作用のメカニズムを明らかにするために、保存脾組織中の adenine nucleotides 含量、cyclic nucleotides 含量を測定し、さらに、脾の形態学的変化を電子顕微鏡を用いて観察したので報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 保存脾移植実験

###### 1. 実験動物

体重 11-24 kg の雌雄両性雑種成犬 29 頭を用いた。

###### 2. Graft 作製

術前約 24 時間絶食とし、チオペンタール・ナトリウム静注 (5-10 mg/kg) にて導入後気管内挿管し、酸素、笑気、フローセンによる全身麻酔 (GOF 麻酔) 下に graft 摘出手術を行った。術中は、Harvard 型人工呼吸器を用いた調節呼吸とし、脾酵素阻害剤であるアプロチニン 50,000 u を加えた乳酸化リンゲル液 (500-1,000 ml) を点滴静注した。

腹部正中切開にて開腹し、摘脾後、脾動静脈を血管茎とする脾尾部 (約 40%) を graft として摘出した (図 1-A)。脾動静脈のみ残して脾尾部を遊離した段階で、脾動脈末梢側からカニューレを挿入し、脾動脈の血流遮断と同時にヘパリン加冷生理食塩水 (100 u/ml) にて flush, 冷却することにより、温阻血時間を 0 分とした。脾動静脈を根部で切離後直ちに、氷冷した灌流保存液約 100 ml で graft 脾を灌流した。灌流は、高さ約 1.5 m からの自然滴下にて行った。灌流後 graft 脾は同液中に浸漬し、0°C で保存 (単純冷却保存) した。

###### 3. 保存条件

Graft の灌流保存液には Collins'M 液 (Na<sup>+</sup>, 10mEq/l; K<sup>+</sup>, 116mEq/l; Mg<sup>++</sup>, 6mEq/l; Cl<sup>-</sup>, 15mEq/l; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 10mEq/l; PO<sub>4</sub><sup>---</sup>, 101mEq/l; SO<sub>4</sub><sup>---</sup>, 6mEq/l; glucose, 139mM/l; ミドリ十字社製) に、アプロチニン 500 u/ml, カルベニシリン 2 mg/ml を添加して使用した。この灌流保存液で graft を灌流後、同液中に 24 時間単純冷却保存して自家移植を行った群 (CM-24 群, n=6), 同じく 48 時間保存後自家移植を行った群 (CM-48 群, n=4), この灌流保存

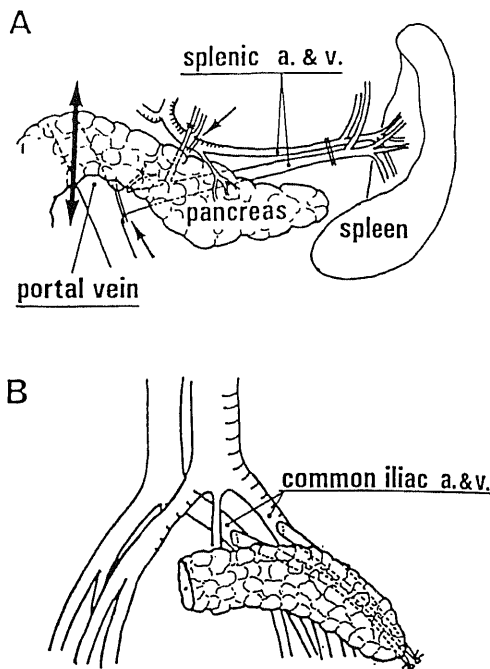


Fig. 1. Schematic drawing of the operative procedure of segmental pancreatic autotransplantation. (A) Graft preparation.  $\blacklozenge$ , site of pancreatic section;  $\blacktriangleleft$ , sites of the splenic arterial and venous sections. (B) Transplantation completed with anastomosis of the splenic vessels to the iliac vessels.

液中に PGI<sub>2</sub> を 2  $\mu$ g/ml の濃度で添加し、灌流後、同液中に 24 時間単純冷却保存して自家移植を行った群 (PG-24 群, n=7), 同じく 48 時間保存後自家移植を行った群 (PG-48 群, n=5) の 4 群を作製した。また、対照群として、アプロチニン、カルベニシリンを添加した Collins'M 液で graft を灌流後、直ちに自家移植を行った新鮮脾移植群 (n=7) を作製した。PGI<sub>2</sub> は使用直前に pH 10.5, 4°C のグリシン緩衝液で溶解し、灌流保存液中に混入した。

###### 4. 移植手技、術後管理

GOF 全身麻酔下に、graft 摘出時の手術切開創を下腹部に延長し開腹した。左腸骨窩で、graft の脾動静脈を総腸骨動静脈に 6-0 Surgilene (American Cyanoid Co., Pearl River, New York) 連続縫合にて端側吻合し、脾管は腹腔内開放とした (図 1-B)。移植後、残存する脾頭部側の脾は Eloy ら<sup>5)</sup> の方法に準じて摘出した。

移植後 3 日間は絶食とし、3~7 日間は糖電解質輸液 1,000-1,500 ml/day, アプロチニン 50,000 u/

day, セフゾキシム 0.5 g/day を投与した。抗凝固剤は投与しなかった。

#### 5. 検査項目および方法

Graft 摘出手術前、移植手術後、移植後7日間の空腹時(絶食、輸液のみの期間は輸液終了後6時間以上経過時)に採血し、血糖値、血清インスリン値、血清膵グルカゴン値、血清アミラーゼ値を測定した。

血糖値は Glucose AUTO & STAT GA-1110<sup>9)</sup>(京都第一科学)にて、血清インスリン値は radioimmunoassay (RIA) 固相法<sup>7)</sup>にて、血清膵グルカゴン値は RIA 二抗体法<sup>9)</sup>にて、血清アミラーゼ値は ヨードデンパン法<sup>9)</sup>(Somogyi 単位)にて測定した。

なお、健常無処置犬 50 頭の空腹時採血によって上記項目を測定し、得られた値より正常値を設定した。

#### 6. 生着率の算出法

各群の生着率は、その時点で生着、生存したイヌの数をその群の総数 (n 数) で除し、百分率で示した。

### II. 保存膵組織中 adenine nucleotides 含量, cyclic nucleotides 含量の測定および保存膵の電顕的検索

#### 1. 実験動物

体重 6-14 kg の雌雄両性雑種成犬 12 頭を用いた。

#### 2. 膵摘出、灌流、保存

前述のように GOF 全身麻酔下に膵摘出手術を行った。術中、アプロチニン 50,000 u、ヘパリン 5,000 u を加えた乳酸化リンゲル液 500 ml を点滴静注した。上腹部正中切開で開腹し、腹腔動脈、門脈のみを残して十二指腸を付けた全膵を遊離したのち摘脾し、前述のように脾動脈末梢側よりカニューレを挿入し、血流遮断と同時にヘパリン加冷生理食塩水 (100 u/ml) にて膵を flush、冷却した (温阻血時間 0 分)。腹腔動脈、門脈を切離後、直ちに前述のように氷冷した灌流保存液で摘出膵を灌流し、同液中に単純冷却保存した。

灌流保存液としてアプロチニン 500 u/ml、カルベニシリン 2 mg/ml を添加した Collins'M 液を用い、同液中に浸漬して 0°C で単純冷却保存した群 (CM 群, n = 6)、この灌流保存液中に PGI<sub>2</sub> を 2 μg/ml の濃度で添加し、灌流後単純冷却保存した群 (PG 群, n = 6) の 2 群を作製した。

#### 3. 保存膵組織中 adenine nucleotides 含量, cyclic nucleotides 含量の測定

開腹直後 (対照)、灌流終了時 (0 時間)、単純冷却保存後 1 時間、6 時間、12 時間、24 時間、48 時間に、大きさ約 5 × 10 × 20 mm の膵組織片を採取し、直ちに液体窒素中で凍結した。凍結した膵組織片は、真空凍結乾燥後、脈管系を除去し粉末とした。

Adenine nucleotides (adenosine triphosphate,

ATP; adenosine diphosphate, ADP; adenosine monophosphate, AMP) は、氷冷した 0.9 N 過塩素酸で試料をホモジェナイズし、冷却遠心分離して除蛋白後、上清を 1.8 N KOH で中和し、ATP test, ADP/AMP test (Boehringer-Mannheim 社製) を使用して紫外外部吸光度測定・end point 法にて測定した<sup>10)</sup>。

Cyclic nucleotides (cyclic 3'-5' adenosine monophosphate, cAMP; cyclic 3'-5' guanosine monophosphate, cGMP) は、氷冷した 6% トリクロル酢酸で試料をホモジェナイズし、冷却遠心分離して除蛋白後、上清から水飽和エーテルでトリクロル酢酸を除去し、ヤマサ cAMP RIA kit, cGMP RIA kit (ヤマサ醤油工業製) を用いて測定した<sup>11)</sup>。

#### 4. 電子顕微鏡検査法

単純冷却保存 48 時間後に小膵組織片を採取した。これを細切し、2.5% グルタルアルデヒド (0.1 M カコジル酸緩衝液, pH 7.4) で 4°C, 60 分間前固定、ついで 2% オスミウム酸 (0.1 M カコジル酸緩衝液, pH 7.4) で 4°C, 90 分間後固定を行ったのちエタノール系列で脱水し、エポン 812 に包埋した。超薄切片は酢酸ウラニル、硝酸鉛で二重染色を施し、日本電子 JEM 100B 型電子顕微鏡にて観察した。

### III. 統計学的検討

測定値はすべて mean ± SD で表示し、各測定値間の差の検定には Student の t 検定または Welch の t 検定を用いた。各群の生着率の差の検定には Peto & Peto の log-rank 検定を、各群の preservation failure, 合併症の発生頻度の差の検定には  $\chi^2$  検定を用いて行い、 $P < 0.05$  を有意の差とした。

## 成 績

### I. 保存膵移植成績

#### 1. 生着率

健常無処置犬の空腹時血糖値は 79 ± 23 mg/dl (n = 50) であったので、33-125 mg/dl (mean ± 2SD) を正常範囲とした。移植後の空腹時血糖値がこの正常範囲内であった場合を生着とみなした。

移植後 1 日目の生着率は、対照群 100% (n = 7)、CM-24 群 66% (n = 6)、CM-48 群 75% (n = 4)、PG-24 群 100% (n = 7)、PG-48 群 80% (n = 5) であり、移植後 7 日目の生着率は、対照群 71%、CM-24 群 17%、CM-48 群 0%、PG-24 群 57%、PG-48 群 20% であった (図 2)。対照群とくらべ PG-24 群の生着率に差は認めなかったが、CM-48 群では有意に低く ( $P < 0.05$ )、CM-24 群、PG-48 群では低い傾向にあった。

#### 2. Graft loss の原因

非生着例や死亡例は全例剖検または犠牲剖検し、

graft loss の原因, 死因を確認した (表 1).

移植後 1 日目から高血糖となり, 他に原因が認められず保存に起因する graft loss と判断したものを preservation failure とみなした. CM-24 群, CM-48 群では各々 33%, 25% に preservation failure を認めたが, PG-24 群, PG-48 群では 1 例も経験しなかった.

血栓症の発生頻度は, 対照群 29%, CM-24 群 33%, CM-48 群 50%, PG-24 群 43%, PG-48 群 40% であり, 各群間に有意な差はみられなかった.

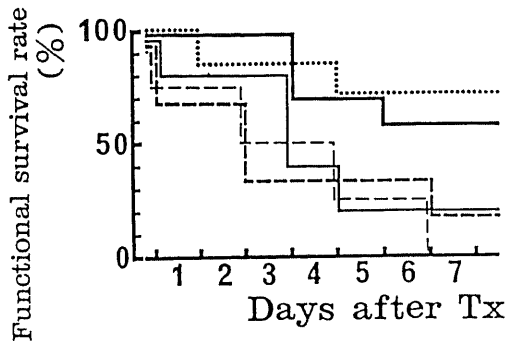


Fig. 2. Changes in functional survival rate of segmental pancreatic autografts. ·····, fresh pancreatic transplantation (controls, 7 dogs); - - - -, 24-hr-preserved pancreatic transplantation without PGI<sub>2</sub> (group CM-24, 6 dogs); - · - ·, 48-hr-preserved pancreatic transplantation without PGI<sub>2</sub> (group CM-48, 4 dogs); —, 24-hr-preserved pancreatic transplantation with PGI<sub>2</sub> (group PG-24, 7 dogs); — — —, 48-hr-preserved pancreatic transplantation with PGI<sub>2</sub> (group PG-48, 5 dogs); Tx, transplantation.

### 3. 血清インスリン値

健康無処置犬の空腹時血清インスリン値は  $8.4 \pm 3.6 \mu\text{U/ml}$  であった.

移植直後の血清インスリン値は, 対照群  $7.3 \pm 3.0 \mu\text{U/ml}$ , CM-24 群  $6.1 \pm 1.8 \mu\text{U/ml}$ , CM-48 群  $6.3 \pm 0.9 \mu\text{U/ml}$ , PG-24 群  $7.5 \pm 2.1 \mu\text{U/ml}$ , PG-48 群  $7.2 \pm 3.4 \mu\text{U/ml}$  で各群間に差は認めなかった. 生着例の移植後 1 日目の血清インスリン値は, 対照群  $30.3 \pm 27.8 \mu\text{U/ml}$ , CM-24 群  $7.4 \pm 3.4 \mu\text{U/ml}$ , CM-48

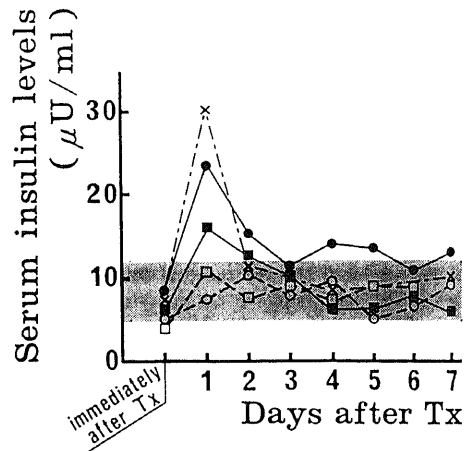


Fig. 3. Course of fasting serum insulin levels in totally pancreatectomized dogs with functioning autograft. ×-×-×, controls; ○-○-○, group CM-24; □-□-□, group CM-48; ●-●-●, group PG-24; ■-■-■, group PG-48. Shaded area represents normal control range of serum insulin. See Fig. 2. for explanation of groups and abbreviations.

Table 1. Causes of graft loss in segmental pancreatic autografts and death of dogs

Group	causes of graft loss			causes of death		
	preservation failure	thrombosis		infection	sacrifice	others
		arterial	venous			
controls (7 dogs)	—	0	2	0	3	4
CM-24 (6 dogs)	2	1	1	1	0	5
CM-48 (4 dogs)	1	1	1	1	0	3
PG-24 (7 dogs)	0	3	0	2	2	3
PG-48 (5 dogs)	0	1	1	2	1	2

See Fig. 2. for explanation of groups and abbreviations.

群  $10.8 \pm 1.3 \mu\text{U/ml}$ , PG-24 群  $23.5 \pm 20.5 \mu\text{U/ml}$ , PG-48 群  $15.9 \pm 8.4 \mu\text{U/ml}$  で, 対照群, PG-24 群では健常無処置犬および他の3群にくらべ高い傾向にあった。移植後2日目以降の生着期間中は全群ほぼ正常範囲内にあった(図3)。

#### 4. 血清膵グルカゴン値

健常無処置犬の空腹時血清膵グルカゴン値は  $53.4 \pm 37.2 \text{ pg/ml}$  であった。

移植直後の血清膵グルカゴン値は, 対照群  $46 \pm 28 \text{ pg/ml}$ , CM-24 群  $56 \pm 30 \text{ pg/ml}$ , CM-48 群  $45 \pm 22 \text{ pg/ml}$ , PG-24 群  $117 \pm 129 \text{ pg/ml}$ , PG-48 群  $75 \pm 26 \text{ pg/ml}$  で, 各群間に差は認めなかった。生着例の移植後1日目の血清膵グルカゴン値は, 対照群  $311 \pm 249 \text{ pg/ml}$ , CM-24 群  $102 \pm 65 \text{ pg/ml}$ , CM-48 群  $133 \pm 69 \text{ pg/ml}$ , PG-24 群  $130 \pm 138 \text{ pg/ml}$ , PG-48 群  $92 \pm 56 \text{ pg/ml}$  で, 対照群は健常無処置犬および他の4群にくらべ高い傾向にあったが, 各群間に差は認めなかった。移植後2日目以降の生着期間中は, PG-24 群, PG-48 群ではほぼ正常範囲内にあったが, 対照群では高い傾向にあり, CM-24 群, CM-48 群では2~4日目が高い傾向にあった。しかし, 個体差が大きく有意な差は認められなかった(図4)。

#### 5. 血清アミラーゼ値

健常無処置犬の空腹時血清アミラーゼ値は  $774 \pm$

$222 \text{ U/ml}$  であった。

移植直後の血清アミラーゼ値は, 対照群  $453 \pm 197 \text{ U/ml}$ , CM-24 群  $1,698 \pm 649 \text{ U/ml}$ , CM-48 群  $3,028 \pm 1,095 \text{ U/ml}$ , PG-24 群  $1,042 \pm 260 \text{ U/ml}$ , PG-48 群  $1,916 \pm 986 \text{ U/ml}$  で, 対照群とくらべ他の4群では有意に高値であった ( $P < 0.05$ )。また, CM-24 群は PG-24 群とくらべ有意に高値であった ( $P < 0.05$ )。生着例の移植後1日目の血清アミラーゼ値は, 対照群  $1,146 \pm 917 \text{ U/ml}$ , CM-24 群  $2,200 \pm 364 \text{ U/ml}$ , CM-48 群  $2,325 \pm 602 \text{ U/ml}$ , PG-24 群  $1,525 \pm 706 \text{ U/ml}$ , PG-48 群  $2,223 \pm 720 \text{ U/ml}$  で, 対照群と PG-24 群との間に差はなかったが, 他の3群は高い傾向にあった。移植後2日目以降の生着期間中, 対照群にくらべ他の4群では高い傾向にあり, 24時間保存群より48時間保存群で,  $\text{PGI}_2$  使用群より非使用群で高い傾向にあった。対照群, CM-24 群, PG-24 群では, 移植後7日目ではほぼ正常域に復した(図5)。

## II. 保存膵組織中 adenine nucleotides 含量, cyclic nucleotides 含量

### 1. Adenine nucleotides

対照の膵組織中 ATP, ADP, AMP 含量およびこれらの総和である total adenine nucleotides (TAN) は, 各々  $15.73 \pm 1.30 \mu\text{M/mg dry weight (d. w.)}$ ,  $4.45 \pm 0.85 \mu\text{M/mg d. w.}$ ,  $1.20 \pm 0.56 \mu\text{M/mg d. w.}$ ,

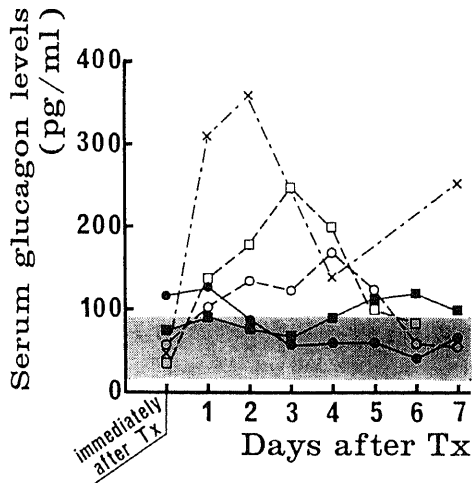


Fig. 4. Course of fasting serum pancreatic glucagon levels in totally pancreatectomized dogs with functioning autograft.  $\times\text{---}\times$ , controls;  $\circ\text{---}\circ$ , group CM-24;  $\square\text{---}\square$ , group CM-48;  $\bullet\text{---}\bullet$ , group PG-24;  $\blacksquare\text{---}\blacksquare$ , group PG-48. Shaded area represents normal control range of serum pancreatic glucagon. See Fig. 2. for explanation of groups and abbreviations.

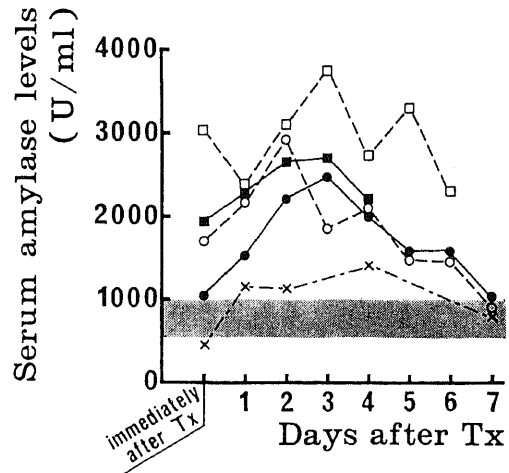


Fig. 5. Course of fasting serum amylase levels in totally pancreatectomized dogs with functioning autograft.  $\times\text{---}\times$ , controls;  $\circ\text{---}\circ$ , group CM-24;  $\square\text{---}\square$ , group CM-48;  $\bullet\text{---}\bullet$ , group PG-24;  $\blacksquare\text{---}\blacksquare$ , group PG-48. Shaded area represents normal control range of serum amylase. See Fig. 2. for explanation of groups and abbreviations.

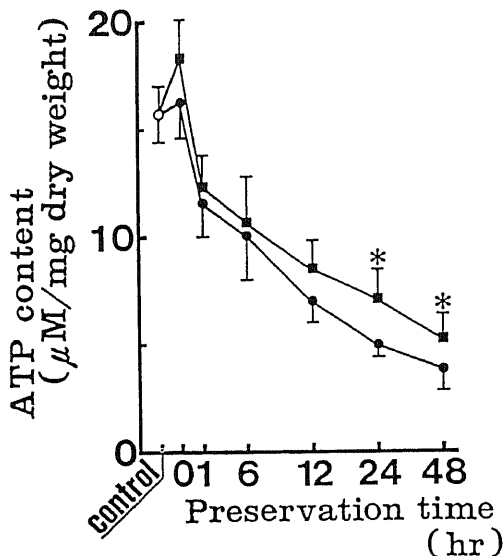


Fig. 6. Changes in ATP contents in canine pancreas at untreated period (control), the end of the perfusion (0 hr), 1, 6, 12, 24 and 48 hr after preservation. ○, control; ●—●, pancreata preserved without PGI<sub>2</sub> (group CM, 6 pancreata); ■—■, pancreata preserved with PGI<sub>2</sub> (group PG, 6 pancreata). Each value represents the mean±SD. \*, significant difference between group CM and group PG,  $P < 0.05$ .

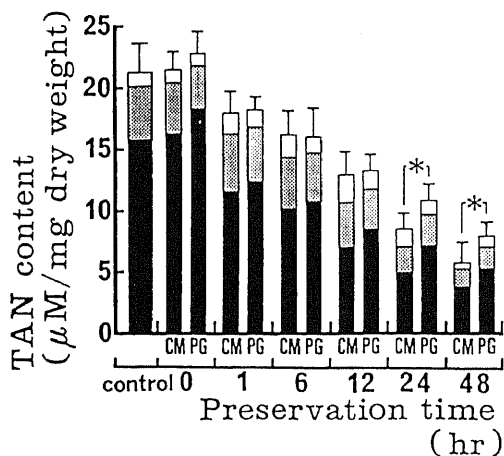


Fig. 7. Changes in TAN contents in canine pancreas at untreated period (control), the end of the perfusion (0 hr), 1, 6, 12, 24 and 48 hr after preservation. Shaded bar, stippled bar and open bar represent ATP, ADP and AMP, respectively. CM, group CM; PG, group PG. Each value represents the mean±SD. \*,  $P < 0.05$ . See Fig. 6. for explanation of groups and abbreviations.

21.41±2.26 μM/mg d. w. (n=12) であった。

保存膵組織中 ATP 含量は, CM 群, PG 群の両群とも保存後 1 時間での減少率が最も大きく, 以後経時的に減少した。しかし, 保存後 24 時間の膵組織中 ATP 含量は, CM 群 4.98±0.60 μM/mg d. w. (n=6), PG 群 7.10±1.38 μM/mg d. w. (n=6) であり, 48 時間では CM 群 3.80±0.87 μM/mg d. w., PG 群 5.23±1.17 μM/mg d. w. と, CM 群に比べ PG 群ではいずれも有意に高値を示した ( $P < 0.05$ ) (図 6)。

保存膵組織中 ADP 含量, AMP 含量は, 各保存時間において両群の間に差は認めなかった。ADP 含量は両群とも保存後 1 時間で最高値をとり, AMP 含量は CM 群では 6 時間, PG 群では 12 時間で最高値をとり, 以後時間的経過とともに減少した。

保存膵組織中 TAN 含量は両群とも経時的に減少した。しかし, 保存後 24 時間の膵組織中 TAN 含量は, CM 群 8.51±1.29 μM/mg d. w., PG 群 10.85±1.31 μM/mg d. w. であり, 48 時間では CM 群 5.73±1.67 μM/mg d. w., PG 群 7.91±1.13 μM/mg d. w. と, CM 群に比べ PG 群では ATP の差を反映していずれも有意に高値であった ( $P < 0.05$ ) (図 7)。

## 2. Cyclic nucleotides

対照の膵組織中 cAMP 含量, cGMP 含量はそれぞれ 2.96±0.45 pM/mg d. w., 66.8±38.4 pM/g d. w. であった。

保存膵組織中 cAMP 含量は各保存時間において両群間に差は認められず, 経時的に漸減した (図 8)。

保存膵組織中 cGMP 含量は各保存時間において両群間に差は認められず, 保存後 1 時間で対照の約 50% にまで減少し, 以後 48 時間まで大きな変動はみられなかった (図 9)。

## III. 48 時間単純冷却保存膵の電顕所見

PG 群の腺房細胞では, 粗面小胞体, 遊離リボソームが豊富に存在し著明な変化は見られなかった。ミトコンドリアは円形～長円形で, 散在性に存在し, 基質の電子密度は高く, クリスタの構造もよく保たれていた。チモージェン顆粒は胞体上部に集積してみられ, 著明な変化なく, 細胞膜, 核にも著明な変化は見られなかった (図 10-A)。ランゲルハンス島 (ラ島) 細胞では, 細胞質電子密度は腺房細胞より低く, 粗面小胞体もまばらで, 細胞内小器管, 内分泌顆粒は良く保たれていた (図 10-B)。

CM 群の腺房細胞では, 大部分の細胞には著明な変化は見られなかったが, 一部の細胞では, び慢性に粗面小胞体が拡張し, ミトコンドリアがやや膨化していた (図 10-C)。ラ島細胞でも大部分の細胞には著変をみなかったが, 一部の B 細胞で細胞質電子密度が低下

し、滑面小胞体が軽度に拡張した細胞内水腫の状態が観察された(図10-D)。

考 察

膵移植には臓器移植とラ島または組織片移植がある。後者は、充分量のラ島分離、移植が難しく、インスリン療法から離脱できることは少ない<sup>11)</sup>。一方、膵臓器移植は、免疫拒絶反応をはじめ、膵外分泌処理や血管合併症などの問題点が多い。さらに、実地臨床的には、recipientの選択や組織適合性の判定、臓器の移送などに時間を要するため、viabilityの高い状態で移植臓器を保存しておく方法を確立する必要がある。

臓器として移植する場合の臓器保存方法には、大別して単純冷却保存と機械灌流保存とがある。単純冷却保存と機械灌流保存との優劣については、腎保存<sup>13)-15)</sup>と同様に膵保存<sup>16)17)</sup>においても未だ明確な結論はでない。しかし、短期間の保存では両者に差はなく、簡便で安価な単純冷却保存が多用されているのが現状である。

また、保存液の組成については、細胞内液類似の電解質液の有用性が示されており<sup>18)</sup>、さらに、種々の血液成分<sup>19)20)</sup>や人工血液<sup>21)22)</sup>の有用性も報告されているが、使い易い細胞内液類似の電解質液が保存液として多用されている。今回の実験に灌流保存液として用い

たCollins'M液は、Collins変法組成のひとつで、腎移植用の冷却保存液である。

ところで、最近PGI<sub>2</sub>が細胞保護作用を有するとの報告がなされており、心筋<sup>2)</sup>、肝<sup>3)</sup>の虚血性障害を抑制することが示されている。虚血による組織障害を抑制することは、臓器保存における重要な課題であり、PGI<sub>2</sub>の細胞保護作用には大きな期待がよせられている。Mondenら<sup>23)</sup>は、イヌ肝単純冷却保存にPGI<sub>2</sub>を用い、48時間まで保存時間を延長し得たことを報告しているが、膵保存にPGI<sub>2</sub>を用いてその効果を検討した報告はまだ見られない。

今回、著者は、豚単純冷却保存にPGI<sub>2</sub>を使用し、保存膵viabilityに及ぼす影響を検討した。

イヌ部分膵自家移植モデルにおける保存膵の移植成績は、移植後7日目までの生着率で検討すると、PGI<sub>2</sub>使用24時間単純冷却保存膵移植群は新鮮膵移植群と変わらず良好な生着率であった。しかし、PGI<sub>2</sub>使用48時間保存群、PGI<sub>2</sub>非使用24時間、48時間保存群では、新鮮膵移植群とくらべその生着率は不良であった。保存膵の移植成績については、24時間までの単純冷却保存では新鮮膵移植と変わらないとする報告<sup>16)20)24)-26)</sup>が多いが、そのほとんどが同種移植モデルであり、自家移植モデルである著者の成績と単純に比較することは難しい。自家移植モデルの場合、拒絶反応など免疫学的影響を回避できるという利点がある反面、短期間

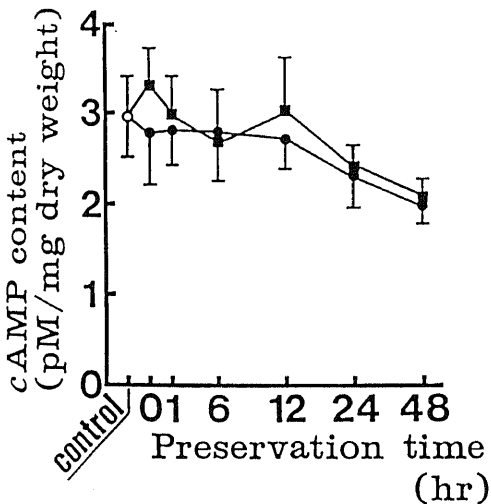


Fig.8. Changes in cAMP contents in canine pancreas at untreated period (control), the end of the perfusion (0 hr), 1, 6, 12, 24, and 48 hr after preservation. ○, control; ●—●, group CM; ■—■, group PG. Each value represents the mean±SD. See Fig. 6. for explanation of groups and abbreviations.

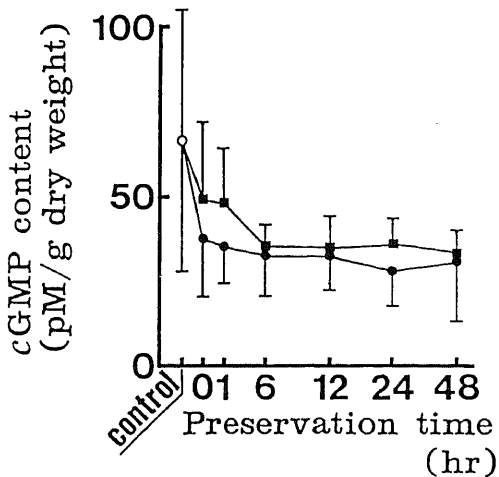


Fig.9. Changes in cGMP contents in canine pancreas at untreated period (control), the end of the perfusion (0 hr), 1, 6, 12, 24 and 48 hr after preservation. ○, control; ●—●, group CM; ■—■, group PG. Each value represents the mean±SD. See Fig. 6. for explanation of groups and abbreviations.



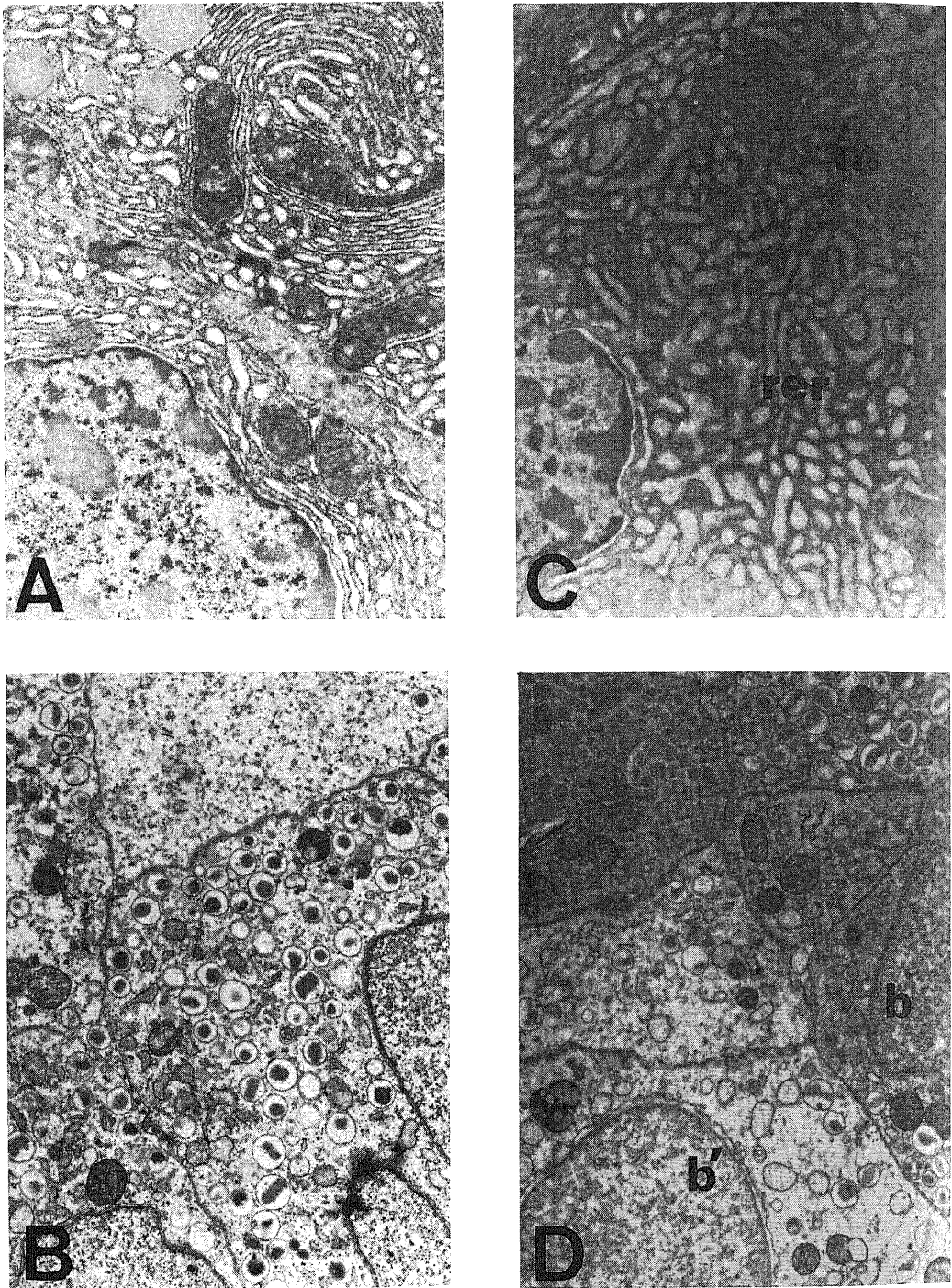


Fig. 10. Electron micrographs of the 48-hr-preserved pancreas. (A) Group PG, showing a normal acinar cell ( $\times 9,500$ ); (B) Group PG, showing normal islet cells ( $\times 7,500$ ); (C) Group CM, the acinar cell showing changes with diffuse dilatation of rough endoplasmic reticulum (rer) and mild swelling of mitochondria (m) ( $\times 9,500$ ); (D) Group CM, part of one B-cell (b) being well preserved and another B-cell (b') showing intracytoplasmic edema ( $\times 7,500$ ). See Fig. 6. for explanation of groups and abbreviations.

に2度の手術侵襲を加えるという欠点が生じてくる。実際、著者の実験では、保存膵移植群に感染症などによる死亡例が多かった。したがって、保存膵 viability を移植生着率のみで単純に論ずることはできないが、PGI<sub>2</sub>を使用しない単純冷却保存では、24時間保存、48時間保存で各々33%、25%の preservation failure を認めたのに対し、PGI<sub>2</sub>使用群では48時間までの単純冷却保存で1例の preservation failure も経験しなかったことは、PGI<sub>2</sub>の有用性を示唆するものであろう。

Preservation failure を明確に定義することは難しいが、著者は、移植後1日目から高血糖となり、剖検または犠牲剖検で他に原因が確認できなかった場合を preservation failure とみなした。移植成績に及ぼす保存の影響としては、著者が preservation failure の基準としたような高度の膵障害による graft failure のほか、移植後の膵炎、内分泌細胞の機能障害などが考えられる。Florack ら<sup>20)</sup>は、著者と同様のイヌ部分膵自家移植モデルで、移植後膵炎は新鮮膵移植ではみられなかったことから、保存に起因した合併症であろうと述べている。また、生着例の内分泌機能には保存時間、保存方法の違いによる差はみられず、保存の影響は生着率にのみ反映されたと述べている。

著者の実験では、移植後生着例の血清アミラーゼ値は、新鮮膵移植群、保存膵移植群のいずれの群でも高値であったが、保存膵移植群でより高い傾向にあった。膵管腹腔内開放モデルであることから、当然腹膜からの膵液吸収によって血清アミラーゼ値の上昇は予想される<sup>27)</sup>が、保存膵移植群では保存により生ずる外分泌細胞障害のため新鮮膵移植群より高値を示したものと考えられる。しかも、統計学的有意差はないものの、24時間保存群より48時間保存群が、PGI<sub>2</sub>使用群より非使用群が高い傾向を示し、血清アミラーゼ値は外分泌細胞障害の程度を反映していると考えられ、PGI<sub>2</sub>使用群の外分泌障害はPGI<sub>2</sub>非使用群より軽度であったと推察される。

一方、生着例の移植後血清インスリン値の推移をみると、新鮮膵移植群、PGI<sub>2</sub>使用24時間保存膵移植群では、他の保存膵移植群や健常無処置犬にくらべ移植後1日目に高い傾向にあった。この高インスリン血症の原因として、膵静脈が大循環へ還流するため肝でのインスリンのクリアランスが回避されること、膵神経切断の影響、膵リンパ流遮断の影響、などが考えられている<sup>28)</sup>。また、移植後早期に一過性にみられることから、血流再開による“wash out”現象とも考えられている<sup>26)</sup>が、はっきりとした機序は解明されていない。しかし、新鮮膵移植群とPGI<sub>2</sub>使用24時間保存膵移植群と

にこうした傾向がみられたことは、少なくともPGI<sub>2</sub>使用24時間保存膵のB細胞は新鮮膵のB細胞とほぼ同等の viability を有していたと考えられる。また、血清膵グルカゴン値の動態をみると、新鮮膵移植群では健常無処置犬および保存膵移植群より高い傾向にあり、高インスリン血症に対して血糖調節のため理にかなった反応と考えることができる。しかし、この現象はPGI<sub>2</sub>使用24時間保存膵移植群にはみられず、B細胞とA細胞の反応には解離がみられる。また、PGI<sub>2</sub>非使用24時間、48時間保存膵移植群では、移植後2~4日目やや上昇する傾向がみられたが、村<sup>29)</sup>が急性膵炎時に血清膵グルカゴン値が上昇することを示したように、膵炎による血清膵グルカゴン値の上昇と考えるべきかもしれない。いずれにしろ、移植膵のA細胞機能に関しては今後の検討が望まれる。

さて、PGI<sub>2</sub>が保存膵の viability を維持するのはいかなる機序によるものであろうか。

Moncada ら<sup>30)</sup>によって発見されたPGI<sub>2</sub>は、主に血管壁内皮細胞で作られ、その代表的作用として、血小板凝集抑制作用、血管拡張作用がよく知られている<sup>31)</sup>。これらの作用を介さない全く独立した作用である細胞保護作用については、その詳細なメカニズムは未だ明らかにされていない。Lefer ら<sup>32)</sup>は、ネコ心で、Araki ら<sup>33)</sup>はネコ灌流肝の虚血モデルで、PGI<sub>2</sub>投与によって虚血性細胞障害が抑制されることを確認し、これはライソソーム膜、形質膜の安定化によると推察している。また、Utsunomiya ら<sup>4)</sup>、エンドトキシンによるイヌ心筋障害がPGI<sub>2</sub>投与によって抑制され、しかも心筋細胞のミトコンドリアの機能、形態がよく保たれたことを報告している。さらに、Sikujara ら<sup>32)</sup>は、PGI<sub>2</sub>投与によってイヌ肝組織中のcAMP、cGMPが上昇し、75分間虚血肝で血流再開後の肝組織中ATP再上昇がPGI<sub>2</sub>投与群で有意に高かったことを示し、PGI<sub>2</sub>のもつcAMP上昇作用が肝細胞の viability を保つ上で重要な役割を演じるものと推察している。

著者は、保存膵に対するPGI<sub>2</sub>の細胞保護作用のメカニズムの一端を明らかにするため、保存膵組織中adenine nucleotides 含量、cyclic nucleotides 含量を測定した。

保存膵組織中ATP含量は保存後経時的に減少したが、その減少率は保存後1時間が最大であった。また、ADP含量、AMP含量は保存後早期には増加したが、以後漸減し、TAN含量も経時的に減少した。これは、保存後早期には細胞内小器官の機能はよく保持されており、保存膵組織が十分低温となる以前にエネルギー代謝が進行し、ATPが消費されて急速に減少し、次第に細胞障害が進行するにつれてadenine nucleotides

が分解されたものと推測される。しかし、PGI<sub>2</sub>使用群の24時間、48時間単純冷却保存後の脾組織中ATP含量、TAN含量は非使用群とくらべて有意に高かった。この差は、単純冷却保存というエネルギー基質の供給がない環境下で、ATP産生量の差とは考えられず、adenine nucleotidesの消費、分解が抑制された結果と考えられる。

一方、保存脾組織中cAMP含量、cGMP含量の動態にはPGI<sub>2</sub>投与による明らかな差は認められなかった。

PGI<sub>2</sub>の細胞レベルでの作用機序に関しては不明な点が少ない。血小板における凝集抑制作用は、PGI<sub>2</sub>が血小板膜のレセプターに結合することによりアデニル酸シクラーゼが活性化され、細胞内にcAMPが増加し、このcAMPがトロンボキサンA<sub>2</sub>の生成を阻害し、Ca<sup>++</sup>の動員を阻止することによって考えられている<sup>39)34)</sup>。そして、PGI<sub>2</sub>によるcAMP上昇作用は血小板以外の多くの組織や細胞でも確認されており<sup>35)~46)</sup>、細胞質内2nd messengerであるcAMPが個々の細胞における生物作用を発現していると考えられている。cAMPは、細胞質内Ca<sup>++</sup>の動員を阻止し、<sup>47)48)</sup>細胞膜リン脂質を構成するアラキドン酸の遊離反応にかかわるホスホリパーゼ活性を抑制し<sup>50)51)</sup>、さらに、ライソソーム酵素の放出を抑制する<sup>52)</sup>といわれており、PGI<sub>2</sub>の細胞保護作用は、こうしたcAMPの作用を介した機序によるものではないかと推察される。

著者の実験では、PGI<sub>2</sub>投与による脾組織中cAMP含量は非投与群との間に差は認められなかった。これに対して、保存脾組織中ATP含量、TAN含量の減少がPGI<sub>2</sub>投与により抑制されたことは、cAMPを介さない何らかの作用による可能性も否定できない。他方、PGI<sub>2</sub>のcAMP上昇作用はPGI<sub>2</sub>の濃度に依存性であることが多く<sup>35)~46)</sup>、細胞によってPGI<sub>2</sub>に対するレセプター親和性に差異のあることが報告されている。<sup>51)~53)</sup> 今回の実験でのPGI<sub>2</sub>投与量、投与方法では脾組織中cAMP含量に明らかな変化を起こさせるにいたらなかったものと推測されるが、今後更に検討を加えたい。また、PGI<sub>2</sub>によって細胞内に生成されたcAMPに、細胞内での局在性あるいはコンパートメントの存在を示唆する報告<sup>54)</sup>もあり、単に細胞内cAMP含量だけでは論じられない面もある。

ところで、PGI<sub>2</sub>は脾の形態、とくに電顕レベルの超微細構造に及ぼす影響を及ぼすのか、興味のあるところである。一般に、脾腺房細胞は肝、心、腎、脳などくらべると、虚血に対する抵抗性が強いといわれている。軽度の場合には、小胞体の拡張、ミトコンドリアの膨化などが起こり、高度になるとライソソームやチモール顆粒膜の破壊が起こり、急速に自己融解

を引き起こす。一方、ラ島細胞は外分泌細胞が自己融解を起こすほどの障害を受けても、早期にはほとんど正常の形態を保ち、その抵抗性は強いといわれている<sup>55)</sup>。Florackら<sup>20)</sup>は、Collins液を用いた24時間単純冷却保存脾では、ラ島細胞にはほとんど変化がみられず、一部の腺房細胞には粗面小胞体の拡張を認めるも可逆的変化であったと述べている。また、Sikujaraら<sup>22)</sup>は、イヌ肝で75分温阻血後に観察された肝細胞のミトコンドリアの膨化、小胞体の拡張、ライソソームや自家食胞の増加などの変化は、PGI<sub>2</sub>投与後の肝ではみられず、細胞の電顕的超微細構造はよく保たれていたと報告している。著者の検討では、48時間単純冷却保存脾には、一部の腺房細胞に粗面小胞体の拡張、ミトコンドリアの軽度の膨化がみられ、ラ島細胞でも一部のB細胞に細胞質電子密度の低下、滑面小胞体の拡張を認めた。しかし、PGI<sub>2</sub>を使用した48時間単純冷却保存脾にはこのような変化は認められず、PGI<sub>2</sub>の細胞保護作用は電顕的にも確認された。

## 結 論

イヌ単純冷却保存脾のviabilityに及ぼすPGI<sub>2</sub>の効果を検討する目的で、部分脾自家移植モデルでの保存脾移植成績、保存脾組織中adenine nucleotides含量およびcyclic nucleotides含量、ならびに保存脾の電顕所見を検討し、以下のような結果を得た。

1. イヌ部分脾自家移植における移植生着率は、移植後1日目で対照群100%、CM-24群67%、CM-48群75%、PG-24群100%、PG-48群80%、移植後7日目で対照群71%、CM-24群17%、CM-48群0%、PG-24群57%、PG-48群20%であり、PG-24群は対照群と差はなく良好であったが、他の3群では対照群にくらべて劣っていた。

2. イヌ部分脾自家移植におけるgraft lossの原因として、CM-24群、CM-48群では各々33%、25%にpreservation failureを認めたが、PG-24群、PG-48群ではpreservation failureは皆無であった。

3. 24時間単純冷却保存脾組織中ATP含量は、CM群4.98±0.60 μM/mg d. w., PG群7.10±1.38 μM/mg d. w.であり、48時間ではCM群3.80±0.87 μM/mg d. w., PG群5.23±1.17 μM/mg d. w.と、PG群で有意に高値を示した。また、TAN含量も、24時間ではCM群8.51±1.29 μM/mg d. w., PG群10.85±1.31 μM/mg d. w.であり、48時間ではCM群5.73±1.67 μM/mg d. w., PG群7.91±1.13 μM/mg d. w.と、PG群で有意に高値を示した。

4. 単純冷却保存脾組織中cAMP含量、cGMP含量は、CM群とPG群との間に有意な差は認めなかつ

た。

5. 48時間単純冷却保存膵の電顕所見では、PG群の腺房細胞、ラ島細胞には著明な変化は見られなかった。しかし、CM群では、一部の腺房細胞に粗面小胞体のび慢性の拡張が、またB細胞には細胞内水腫が観察された。

以上の機能的、形態的検討の結果から、PGI<sub>2</sub>は単純冷却保存における膵細胞の障害を抑制することが示唆された。

(本論文の要旨は第11回日本低温医学研究会総会、第85回日本外科学会総会において発表した。)

謝 辞

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師宮崎逸夫教授、また本研究に直接御指導、御助言を戴きました小西孝司博士、泉良平博士に深く感謝いたします。

なお、本研究の一部は厚生省難治性障害疾患調査研究班研究費による。

文 献

1) Sutherland, D. E. R.: Pancreas and islet transplant registry statistics. *Transplant. Proc.*, **16**, 593-598 (1984).

2) Lefer, A. M., Ogletree, M. L., Smith, J. B., Silver, M. J., Nicolaou, K. C., Barnette, W. E. & Gasic, G. P.: Prostacyclin: A potentially valuable agent of preserving myocardial tissue in acute myocardial ischemia. *Science*, **200**, 52-54 (1978).

3) Araki, H. & Lefer, A. M.: Cytoprotective actions of prostacyclin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. *Am. J. Physiol.*, **238**, H176-H181 (1980).

4) Utsunomiya, T., Krausz, M. M., Kobayashi, M., Shepro, D. & Hechtman, H. B.: Myocardial protection with prostacyclin after lethal endotoxemia. *Surgery*, **92**, 101-108 (1982).

5) Eloy, R., Bouchet, P., Clendinnen, G., Daniel, J. & Grenier, J. F.: New technique of total pancreatectomy without duodenectomy in the dog. *Am. J. Surg.*, **140**, 409-412 (1980).

6) 小川善資・有末一隆・甲田一馬・林 長蔵・岸本進一・河井昭治・宮井 潔: 固定化酵素膜/過酸化水素電極を利用したグルコース自動分析装置の開発と評価. *生物試料分析*, **2**, 1-6 (1979).

7) 野村武則・小田桐玲子・明石弘子・出村黎子・出村 博: 固相化抗体ビーズ法を用いたInsulin RIA Kit IIの基礎的検討および臨床的応用. *医学と薬学*, **9**, 225-233 (1983).

8) Nishino, T., Kodaira, T., Shin, S., Imagawa, K., Shima, K., Kumahara, Y., Yanaihara, C. & Yanaihara, N.: Glucagon radioimmunoassay with use of antiserum to glucagon C-terminal fragment. *Clin. Chem.*, **27**, 1690-1697 (1981).

9) 長田敦夫・小口寿夫: アミラーゼ, リパーゼ. *臨床検査*, **25**, 497-506 (1981).

10) 中野昭一・吉岡利忠・清水隆介・斉藤喜好・成井陽子: ATP, ADP および AMP の酵素的定量法と、各臓器組織の含有量について. *診断と治療*, **59**, 174-181 (1971).

11) 宇井理生・岡田文彦・佐藤朝一: サイクリックヌクレオチドの体内動態, 第1版, 13-25頁, 医歯薬出版株式会社, 東京, 1984.

12) Sutherland, D. E. R. & Najarian, J. S.: Pancreas and islet transplantation, p434-469. *In* J. R. Brooks (ed.), *Surgery of the pancreas*, 1st ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1983.

13) Bursleson, R. L., Jones, D. B., Yenikomshian, A. M., Cornwall, C., DeVoe, C. & DeRito, J.: Clinical renal preservation by cryoperfusion with an albumin perfusate. *Arch. Surg.*, **113**, 688-692 (1978).

14) Barry, J. M., Metcalfe, J. B., Farnsworth, M. A., Bennet, W. M. & Hodges, C. V.: Comparison of intracellular flushing and cold storage to machine perfusion for human kidney preservation. *J. Urology*, **123**, 14-16 (1980).

15) Opelz, G. & Terasaki, P. I.: Advantage of cold storage over machine perfusion for preservation of cadaver kidneys. *Transplantation*, **33**, 64-68 (1982).

16) Toledo-Pereyra, L. H., Valjee, K. D., Chee, M. & Lillehei, R. C.: Preservation of the pancreas for transplantation. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **148**, 57-61 (1979).

17) Florack, G., Sutherland, D. E. R., Heil, J., Squifflet, J. P. & Najarian, J. S.: Preservation of canine segmental pancreatic autografts: Cold storage versus pulsatile machine perfusion. *J. Surg. Res.*, **34**, 493-504 (1983).

18) Collins, G. M., Bravo-Shugarman, M. & Terasaki, P. I.: Kidney preservation for transplantation: Initial perfusion and 30 hours' ice storage. *Lancet*, **2**, 1219-1222 (1969).

19) De Gruyl, J., Westbroek, D. L., Macdicken, I., Ridderhof, E., Verschoor, L. & Van Strik, R.:

- Cryoprecipitated plasma perfusion preservation and cold storage preservation of duct-ligated pancreatic allografts. *Br. J. Surg.*, **64**, 490-493 (1977).
- 20) Florack, G., Sutherland, D. E. R., Heil, J., Zweber, B. & Najarian, J. S.: Long-term preservation of segmental pancreas autografts. *Surgery*, **92**, 260-269 (1982).
- 21) Kamada, N., Calne, R. Y., Wight, D. G. D. & Lines, J. G.: Orthotopic rat liver transplantation after long-term preservation by continuous perfusion with fluorocarbon emulsion. *Transplantation*, **30**, 43-48 (1980).
- 22) Mitsuno, T., Ohyanagi, H. & Yokoyama, K.: Development of a perfluorochemical emulsion as a blood gas carrier. *Artificial Organs*, **8**, 25-33 (1984).
- 23) Monden, M. & Fortner, J. G.: Twenty-four and 48-hour canine liver preservation by simple hypothermia with prostacyclin. *Ann. Surg.*, **196**, 38-42 (1981).
- 24) Westbroek, D. L., De Gruyl, J., Dijkhuis, C. M., McDicken, I., Drop, A., Scholte, A. & Hulsmans, H. A. M.: Twenty-four-hour hypothermic preservation perfusion and storage of the duct-ligated canine pancreas with transplantation. *Transplant. Proc.*, **6**, 319-322 (1974).
- 25) Brynger, H.: Twenty-four-hour preservation of the duct-ligated canine pancreatic allograft. *Eur. Surg. Res.*, **7**, 341-354 (1975).
- 26) Nolan, M. S., Lindsey, N. J., Ingram, N. P., Herold, A., Slater, D. N., Beck, S. & Fox, M.: Cold storage of the pancreas with a view to preservation of islet cell function following transplantation. *Transplantation*, **36**, 486-490 (1983).
- 27) Sutherland, D. E. R., Baumgartner, D. & Najarian, J. S.: Free intraperitoneal drainage of segmental pancreas grafts: Clinical and experimental observation on technical aspects. *Transplant. Proc.*, **12**, 26-32 (1980).
- 28) Bewick, M., Mundy, A. R., Eaton, B. & Watson, F.: Endocrine function of the heterotopic pancreatic allotransplantation in dogs. *Transplantation*, **31**, 15-25 (1981).
- 29) 村 俊成: 急性膵炎時の膵内分泌動態一特に $\alpha$ 細胞機能に関する実験的研究一. *十全医会誌*, **89**, 403-421 (1980).
- 30) Moncada, S., Gryglewski, R. J., Bunting, S. & Vane, J. R.: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, **263**, 663-665 (1976).
- 31) Vane, J. R., Bunting, S. & Moncada, S.: Prostacyclin in physiology and pathophysiology, p161-207. *In* G. W. Richter & M. A. Epstein (ed.), *International review of experimental pathology*, **23**. Academic Press, New York, 1982.
- 32) Sikujara, O., Monden, M., Toyoshima, K., Okamura, J. & Kosaki, G.: Cytoprotective effect of prostaglandin  $I_2$  on ischemia-induced hepatic cell injury. *Transplantation*, **36**, 238-243 (1983).
- 33) Gorman, R. R.: Modulation of human platelet function by prostacyclin and thromboxane  $A_2$ . *Federation Proc.*, **38**, 83-88 (1979).
- 34) Gorman, R. R., Wierenga, W. & Miller, O. V.: Independence of the cyclic AMP-lowering activity of thromboxane  $A_2$  from platelet release reaction. *Biochim. Biophys. Acta*, **572**, 95-104 (1979).
- 35) Goff, A. K., Zamecnik, J., Ali, M. & Armstrong, D. T.: Prostaglandin  $I_2$  stimulation of granuloma cell cyclic AMP production. *Prostaglandin*, **15**, 875-879 (1978).
- 36) Crawford, A., Atkins, D. & Martin, T. J.: Rat osteogenic sarcoma cells: Comparison of the effects of prostaglandins  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $I_2$  (prostacyclin), 6-keto  $F_{1\alpha}$  and thromboxane  $B_2$  on cyclic AMP production and adenylate cyclase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **82**, 1195-1201 (1978).
- 37) Ortmann, R.: Effect of  $PGI_2$  and stable endoperoxide analogues on cyclic nucleotide levels in clonal cell lines of CNS origin. *FEBS letters*, **90**, 348-352 (1978).
- 38) Gorman, R. R., Hamilton, R. D. & Hopkins, N. K.: Stimulation of human foreskin fibroblast adenosine 3': 5'-cyclic monophosphate levels by prostacyclin (prostaglandin  $I_2$ ). *J. Biol. Chem.*, **254**, 1671-1676 (1979).
- 39) Laychock, S. G. & Walker, L.: Evidence for 6-keto- $PGF_{1\alpha}$  in adrenal cortex of the rat and effects of 6-keto- $PGF_{1\alpha}$  and  $PGI_2$  on adrenal cAMP levels and steroidogenesis. *Prostaglandins*, **18**, 793-811 (1979).
- 40) Simon, B., Kather, H. & Kommerell, B.: Prostacyclin: A potent activator of human colonic adenylate cyclase activity. *Z. Gastroenterol.*, **12**, 748

-751 (1978).

- 41) Toth, M., Todd, H. & Hertelendy, F.: A comparison of the effects of PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> and PGH<sub>2</sub> on the cyclic nucleotide levels in rat anterior pituitary glands in vitro. *Prostaglandins*, **17**, 105-109 (1979).
- 42) Omini, C., Folco, G. C., Pasargiklian, R., Fano, M. & Berti, F.: Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) in pregnant human uterus. *Prostaglandins*, **17**, 113-120 (1979).
- 43) Herman, C. A., Zenser, T. V. & Davis, B. B.: Comparison of the effects of prostaglandin I<sub>2</sub> and prostaglandin E<sub>2</sub> stimulation of the rat kidney adenylate cyclase-cyclic AMP systems. *Biochem. Biophys. Acta*, **582**, 496-503 (1979).
- 44) Simon, B. & Kather, H.: Modulation on human gastric mucosal adenylate cyclase activity by prostacyclin. *Digestion*, **19**, 137-139 (1979).
- 45) Miller, O. V., Aiken, J. W., Hemker, D. P., Shebuski, R. J. & Gorman, R. R.: Prostacyclin stimulation of dog arterial cyclic AMP levels. *Prostaglandins*, **18**, 915-925 (1979).
- 46) Simon, B. & Kather, H.: PGI<sub>2</sub>-sensitive human adenylate cyclase in biopsy specimens of corpus, antral and duodenal mucosa. *Digestion*, **20**, 111-114 (1980).
- 47) Berridge, M. J.: The interaction of cyclic nucleotides and calcium in the control of cellular activity, p1-98. *In* P. Greengard & G. A. Robison (ed.), *Advances in cyclic nucleotide research*, **6**, Raven Press, New York, 1975.
- 48) 室田誠逸: アラキドン酸代謝の調節. *代謝*, **18**, 319-327 (1981).
- 49) 梶川憲雄・西山 馨・岸本 明: ホルモンの受容機構と蛋白質リン酸化反応. *代謝*, **18**, 1117-1125 (1981).
- 50) Ignarro, L. J., Oronsky, A. L. & Perper, R. J.: Effects of prostaglandins on release of enzymes from lysosomes of pancreas, spleen and kidney cortex. *Life Sci.*, **12**, 193-201 (1973).
- 51) Kennedy, I., Coleman, R. A., Humphrey, P. P. A., Levy, G. P. & Lumley, P.: Studies on the characterisation of prostanoid receptors: A proposed classification. *Prostaglandins*, **24**, 667-689 (1982).
- 52) Blair, I. A. & MacDermot, J.: The binding of [<sup>3</sup>H]prostacyclin to membranes of a neuronal somatic hybrid. *Br. J. Pharmac.*, **72**, 435-441 (1981).
- 53) Siegl, A. M., Smith, J. B., Silver, M. J., Nicolaou, K. C. & Ahern, D.: Selective binding site for [<sup>3</sup>H]prostacyclin on platelets. *J. Clin. Invest.*, **63**, 215-220 (1979).
- 54) Hayes, J. S. & Brunton, L. L.: Functional compartments in cyclic nucleotide action. *J. Cyclic Nucleotides Res.*, **8**, 1-16 (1982).
- 55) Toner, P. G., Carr, K. E. & McLay, A. L. C.: The exocrine pancreas, p211-245. *In* J. V. Johannessen (ed.), *Electron microscopy in human medicine*, **7**, 1st ed., McGraw-Hill International Book Co., New York, 1980.

**Experimental Studis on Simple Cold Storage of the Canine Pancreas—Effect of Prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) on the Viability of the Preserved Pancreas—** Koichi Shimizu, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — *J. Juzen Med. Soc.*, **94**, 591—604 (1985)

**Key words:** pancreatic autotransplantation, simple cold storage, prostaglandin I<sub>2</sub>, cytoprotective effect

#### Abstract

Previous researches indicate that PGI<sub>2</sub> has a cytoprotective effect on ischemia-induced cell injuries. This study was pursued to evaluate the effect of PGI<sub>2</sub> on the viability of the preserved canine pancreas. Short-term graft survival rate after segmental pancreatic autotransplantation, the contents of adenine nucleotides and cyclic nucleotides in the preserved pancreas, and electron microscopic observations of the preserved pancreas were studied. The pancreas was

preserved in Collins'M solution at 0°C after perfusion with the same solution. In segmental pancreatic autotransplantation, the experimental animals were divided into five groups: 7 dogs were transplanted with fresh pancreas (controls), 6 dogs were transplanted with 24-hr-preserved pancreas (group CM-24), 4 dogs were transplanted with 48-hr-preserved pancreas (group CM-48), 7 dogs were transplanted with 24-hr-preserved pancreas with PGI<sub>2</sub> (2μg/ml) -supplemented Collins' M solution (group PG-24), and 5 dogs were transplanted with 48-hr-preserved pancreas with the same solution (group PG-48). There was no difference in the functioning survival rate between group PG-24 and the controls, but the rates in the other three groups were lower than in the controls. The preservation failure rates were 0% in both group PG-24 and PG-48, but were 33% and 25% in group CM-24 and CM-48, respectively. Hyperinsulinemia was noted in group PG-24 and the controls on the 1st day after transplantation. Serum amylase levels were elevated in all the groups, and were higher in the groups of preservation without PGI<sub>2</sub> than in the groups of preservation with PGI<sub>2</sub> after transplantation. The contents of adenine nucleotides (adenosine triphosphate, ATP; adenosine diphosphate, ADP; adenosine monophosphate, AMP) and cyclic nucleotides (cyclic 3'-5' adenosine monophosphate, cAMP; cyclic 3'-5' guanosine monophosphate, cGMP) in the preserved pancreas were measured. The experimental groups were divided into two groups as follows: 6 pancreata were preserved without PGI<sub>2</sub> (group CM) and 6 pancreata were preserved with PGI<sub>2</sub> (2μg/ml)-supplemented Collins'M solution (group PG). ATP contents in the 24- and 48-hr-preserved pancreas were significantly higher in group PG than in group CM, and total adenine nucleotides in the 24- and 48-hr-preserved pancreas were also higher in group PG than in group CM. There was no significant difference in cyclic nucleotides contents in the preserved pancreas between groups PG and CM. In electron micrographs of 48-hr-preserved pancreas, acinar and islet cells in group PG showed normal structure. In group CM, however, some acinar cells showed diffuse dilatation of rough endoplasmic reticulum and some B-cells showed intracytoplasmic edema. From the results described above, it is indicated that PGI<sub>2</sub> is available in simple cold storage of the pancreas.