

急性膵炎時の膵内分泌動態：
特に α 細胞機能に関する実験的研究

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	http://hdl.handle.net/2297/8841

急性膵炎時の膵内分泌動態

—特に α 細胞機能に関する実験的研究—

金沢大学医学部外科学第2講座 (主任:宮崎逸夫教授)

金沢大学がん研究所外科部門 (主任:中川原儀三教授)

村 俊 成

(昭和55年5月30日受付)

今日まで、急性膵炎の病態生理に関する多くの実験的、臨床的研究がなされてきたが、特に膵内分泌動態については、いまだ明らかでない点が多い。

ところで、急性膵炎の経過中に糖代謝異常を認めることは良く知られており^{1)~3)}、糖尿の出現頻度は4.5~34.3%、高血糖は16~90.9%に出現することが報告されている⁴⁾。1924年Calzadvaが、犬の実験的膵炎で高血糖が高頻度に出現すると報告⁵⁾して以来、急性膵炎時の高血糖、糖代謝異常などの内分泌障害に関する研究がすすめられてきた²⁾⁶⁾。

最近、Bersonら⁷⁾によりインスリン、Ungerら⁸⁾によりグルカゴンの免疫学的測定法が確立されてから、急性膵炎時におけるこれらホルモンの分泌動態に関する研究も行われるようになり、これらホルモンの診断的意義が注目されている⁹⁾。

急性膵炎時にみられる糖代謝障害の発生機序としては、膵炎病変によりランゲルハンス島 β 細胞が障害され、インスリンの分泌低下をきたすものと考えられている⁴⁾。一方、実験的急性膵炎で血中グルカゴンの上昇がみられるという報告¹⁰⁾があり、これとは逆に急性膵炎初期に低血糖を認めたという実験的研究¹¹⁾¹²⁾もある。このように内分泌動態に関する一定した見解がなく、これまでも急性膵炎時のインスリン分泌動態についての報告^{13)~17)}、或いはグルカゴン動態についての報告¹⁸⁾¹⁹⁾がなされているが、糖代謝異常を解明するには、最近の糖尿病の研究^{20)~27)}にみられるように、膵内分泌動態を、インスリンおよびグルカゴンの両面から検討

する必要があると思われる。

そこで著者は、実験的に急性膵炎を作製し、急性膵炎時における膵内分泌動態、特に報告の少ないグルカゴン動態につき、血中、膵組織内の変動を検討すると共に、分離膵ランゲルハンス島(以下ラ島と略す)におけるグルカゴンの分泌および合成能をも検索したところ、若干の成績を得たので報告する。

材料および方法

I. 実験動物

体重200~300gの呑竜系雄ラットを実験に用いた。

II. 方法

1. 急性膵炎群の作製

ラットを24時間絶食後、エーテル麻酔下にて開腹して、Blockら²⁸⁾の方法、すなわち総胆管の十二指腸開口部を結紮し、胆汁逆流による急性膵炎を作成した。

2. 対照群の作製

ラットを24時間絶食後、エーテル麻酔下にて開腹のみを行った単開腹ラットを対照群とした。

3. 検索方法

これら急性膵炎群および対照群ラットの α 細胞機能を主とした内分泌動態につき以下の如き検索を行った。

1) 病理組織学的検索

急性膵炎作製後6時間、24時間、72時間目のラットの膵を、ラボナール麻酔下にて摘出し、10%中性緩衝

Experimental studies on the endocrine function in acute pancreatitis —with special reference to Alpha cell— **Toshinari Mura**. Second Department of Surgery (Director:Prof. I. Miyazaki), School of Medicine, Kanazawa University and Surgical Department of Cancer Reseach Institute (Director:Prof. G. Nakagawara), Kanazawa University.

ホルマリン液で固定を行い、パラフィン包埋後、 4μ にて標本を切り出した。この標本に、Hematoxylin - Eosin 染色 (H-E 染色) および藤田変法による Aldehyde - Fuchsin 染色 (A-F 染色)²⁹⁾を行ない、ラ島の病理組織学的変化を検索した。更に、膵グルカゴン特異抗血清 (J1MROJK20) を用い、グルカゴン蛍光抗体法³⁰⁻³²⁾にて α 細胞を観察した。

2) 血清アミラーゼの測定

血清アミラーゼを対照群および急性膵炎群につき各群作製後 6, 12, 24, 48 および 72 時間目に測定した。なお、アミラーゼの測定は Blue Starch 法にて行い、国際単位 iu/l にて示した。

3) 血中グルカゴン (IRG), インスリン (IRI) および血糖値の測定

i) 血中 IRG の測定

血中グルカゴンの測定は次の如く行った。すなわち、採血後直ちに、資料を EDTA- K_2 入り試験管に入れ、 $4^{\circ}C$ で遠心後、得られた血清に蛋白分解酵素によるグルカゴンの分解を予防するため³³⁾蛋白分解阻止剤の Trasylol を 1,000 単位/ml 入れ、これを $-20^{\circ}C$ で凍結保存した。グルカゴンの測定は、膵グルカゴン特異抗体 30K を用い、Unger の方法⁸⁾に準じ Dextran Charcol を用いた 1 抗体法³⁴⁾にて行った。単位は pg/ml で示した。

ii) 血中 IRI の測定

血中インスリンの測定は、採血後直ちに遠心し $-20^{\circ}C$ にて凍結した血清につき、Dainebot 社の Insulin RIA-KIT を用い 2 抗体法にて測定した。単位は $\mu U/ml$ で示した。

iii) 血糖値の測定

血糖値は O-toluidine 法 (Glucose test Wako) にて測定し、単位を mg/dl で示した。

4) 経静脈的アルギニン負荷試験 (IV - ATT)

無処置ラットおよび 6 時間, 24 時間, 72 時間の各急性膵炎群について、L-Arginine 塩酸塩 $400 mg/kg$ の尾静脈負荷を行い、負荷前、負荷後 1, 3, 5 分目に下大静脈より採血し前記の方法にて、血糖、IRG および IRI を測定した。

5) 膵組織内グルカゴンの測定

急性膵炎群および単開腹群ともに、それぞれの処置後 6 時間, 24 時間, 48 時間, 72 時間目に膵組織を摘出し、膵組織内グルカゴンを測定した。

Kenny の方法³⁵⁾に準じて³⁶⁾、摘出した膵組織を生理食塩水にて軽く洗い、重量を測定し、これに 5 倍容の 75% 塩酸エタノールを加え、直ちに水冷しながらホモジナイズした。資料を $4^{\circ}C$ で 12 時間放置し、

$10,000r.p.m.0^{\circ}C$ にて 15 分間冷却遠心して、その上清の pH をアンモニアで中性とし、再び遠心 ($3,000r.p.m.$) した上清をアルコール・エーテルにて沈殿させた。このようにして得られた沈殿物を、乾燥させたのちデシケーター ($4^{\circ}C$) 中に保存した。測定にあたって沈殿物をパウダーとし、それを 0.2M グリシン溶液 (pH 8.6) と蒸留水に溶解して約 2 時間冷蔵庫内に放置した。次いで遠心により不溶性の部分が除去された可溶性部分を 1 ml 採取して、それに Trasylol を 1,000K.E. 加え、血清グルカゴン測定と同様の方法で膵組織内グルカゴンを測定した。なお、同組織内の蛋白量を Lowry 法にて測定し、膵組織内グルカゴン量を $\mu g/g \cdot protein$ で表わした (図 I)。

6) 分離ラ島における膵ホルモン動態

i) ラ島の分離

急性膵炎群および単開腹群ラットに、ラボナール ($50 mg/kg$) の腹腔内投与による麻酔を行い、以下の手技にてラ島の分離を実施した。すなわち、Lacy-

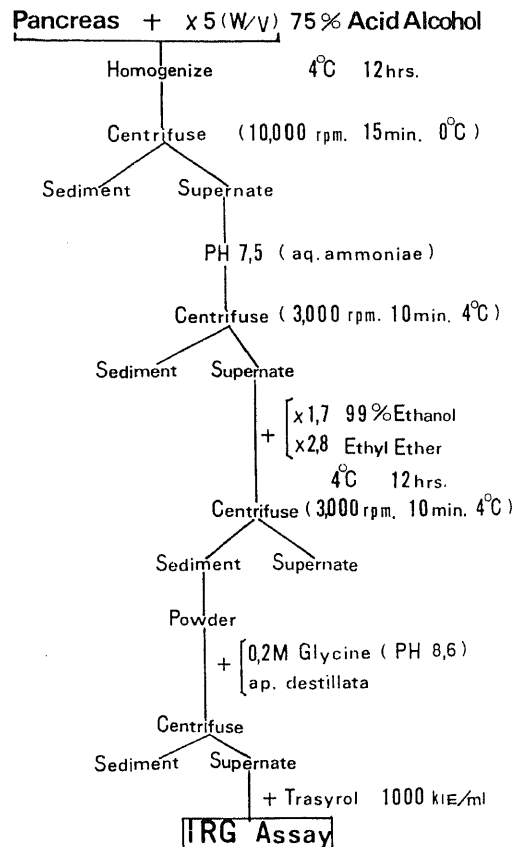


図1 膵組織内グルカゴン測定法

Kostianovsky の collagenase 法³⁹⁾を改良した岡本³⁹⁾, 秋本⁴⁰⁾の方法を用いた。本法により得られた膨化膵を眼科用クーパーにて細切し, 50 ml 容三角フラスコに入れ, この中へ Collagenase (Type CLS IV, Lot, No.47E 288P Worthington 社製) を膵炎による膵組織の障害を考慮し 30 mg に減じて加え, 更に Bovin serum albumin (Lot. No.S59802, Armour 社製) 100 ~ 120 mg および Hanks solution 15 ml を加え, 37 °C の Water bath incubator の中で 150 ~ 200 回 / 分の振盪下に約 10 分間の incubation を行った。消化された泥状液をメスシリンダーに移した後, cold および warm Hanks 液で計 8 回洗浄し, 外分泌組織を除去した。残りの沈殿物に Cold Hanks 液を少量入れ混和し, これを ice bath 内のシャーレに移し, 実体顕微鏡下で毛細管ピペットにてラ島を採取し, 以下の実験に供した。なお, 単開腹ラットでは 150 ~ 200 個, 急性膵炎ラットでは 50 ~ 150 個のラ島がラット一匹より得られた。

ii) 分離ラ島の形態学的観察

分離ラ島の単開腹および急性膵炎による形態学的変化を, 透過ノマルスキー微分干渉顕微鏡にて観察した。

iii) 分離ラ島のグルカゴン測定

急性膵炎 6 時間群, 24 時間群, 72 時間群および単開腹 6 時間, 24 時間, 72 時間群のラットのラ島を上記の方法で分離した。分離されたラ島の 5 ~ 10 個を, 0.5 ml の Krebs-Ringer-Bicarbonate に 5mM Glutamate, 5mM Fumarate, 5mM Pyruvate, 0.2% Bovine serum albumin を加えた medium 中に入れ, 数分間 O₂ 95%, CO₂ 5% の混合ガスで通気後, 37 °C, 150 ~ 200 回 / 分の振盪下で 30 分間 preincubation し, 次に medium 中に 5.5mM Glucose および 20mM Arginine を加え, 30 分, 60 分, 90 分後に medium 内へ放出されたグルカゴンを血中グルカゴンと同様の方法にて測定した。その単位は pg / ml / islet で表わした (図 2)。

iv) 分離ラ島のインスリン測定

分離ラ島のグルカゴン測定方法と同様の方法にて, medium 内へ放出されたインスリンを血中インスリンと同様の方法で測定した。その単位は μ U / ml / islet で表わした。

成 績

I. 病理組織学的所見

H-E 染色において, 急性膵炎群では膵外分泌腺細胞の空胞化, 間質の浮腫, 軽度の出血がみられ, 更に膵炎の時間経過とともにチモゲン顆粒の減少が認め

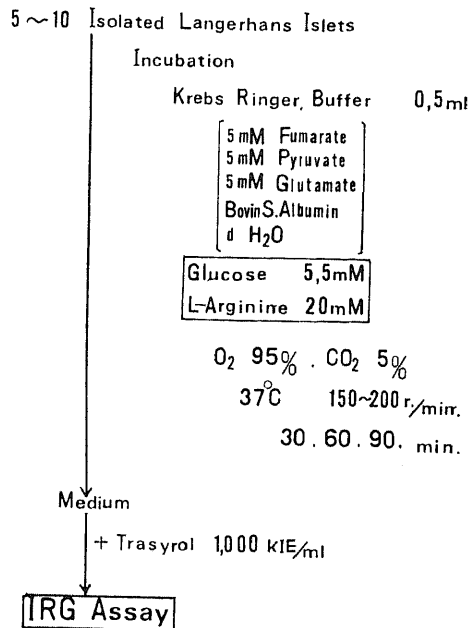


図 2 分離ラ島のグルカゴン測定法

られた。次に, A-F 染色にてラ島の変化をみると, 膵炎作製後 72 時間目の急性膵炎群ではラ島被膜の断裂, 細胞配列の乱れ, β 細胞分泌顆粒の減少などがみられたが, α 細胞の変化は明瞭ではなかった。そこで, グルカゴンの蛍光抗体法で検索すると, 正常膵のラ島では, グルカゴン陽性細胞はラ島周辺部に密に存在していたが, 72 時間目の急性膵炎ラットでは, ラ島周辺部のグルカゴン陽性細胞の配列の乱れ, 或いは陽性細胞の減少, 蛍光の低下が認められた (写真 1 ~ 6)。

II. 血清アミラーゼ所見

血清アミラーゼ値は, 無処置前値が $7,510 \pm 1,030$ i.u./l (M \pm SD) (n = 10 以下同じ) であり, 対照群では単開腹後 6 時間値が $9,472 \pm 1,439$ i.u./l, 12 時間値が $9,427 \pm 1,237$ i.u./l, 24 時間値が $7,738 \pm 1,089$ i.u./l, 48 時間値が $7,817 \pm 1,549$ i.u./l, 72 時間値が $8,639 \pm 2,619$ i.u./l であった。一方, 急性膵炎群では, 急性膵炎作製後 6 時間値が $28,683 \pm 8,868$ i.u./l と最高値を示し, 12 時間値が $22,885 \pm 4,856$ i.u./l, 24 時間値が $14,234 \pm 2,313$ i.u./l, 48 時間値が $14,517 \pm 1,250$ i.u./l と対照群に比し有意の上昇 (P < 0.01) を示し, 72 時間値で $8,639 \pm 2,619$ i.u./l と前値に復した。このように急性膵炎時の血清アミラーゼは, 6 時間目に最高値を示し, その後徐々に低下した (図 3)。

Ⅲ. 急性膵炎時の血中 IRG, IRI, 血糖の変動

1. 血中グルカゴン値の変動

表1に示す如く、ラットの血中グルカゴン値は無処置前値が $165 \pm 40 \text{ pg/ml}$ ($M \pm SD$) ($n = 10$ 以下同じ)である。対照群の単開腹後6時間値は $297 \pm 91 \text{ pg/ml}$ 、12時間値は $260 \pm 91 \text{ pg/ml}$ 、24時間値は

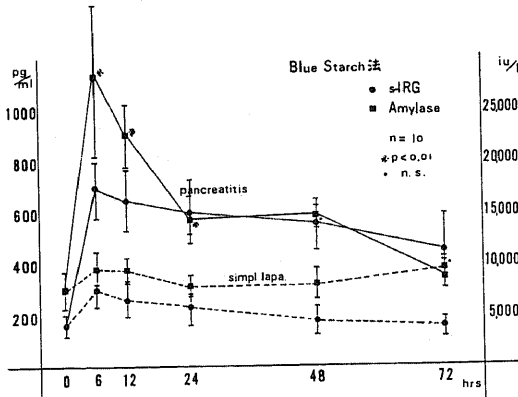


図3 血中グルカゴンと血清アミラーゼの変動

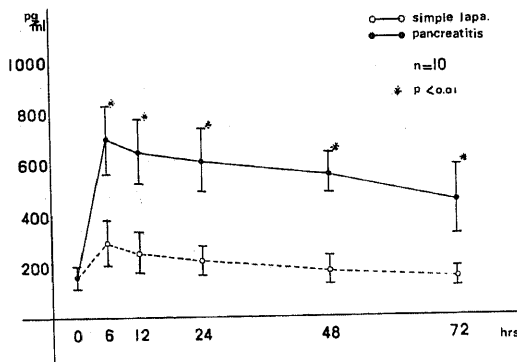


図4 血中グルカゴンの変動

$237 \pm 42 \text{ pg/ml}$ 、48時間値は $189 \pm 56 \text{ pg/ml}$ 、72時間値は $159 \pm 31 \text{ pg/ml}$ であった。一方、急性膵炎群の血中グルカゴン値は膵炎作成後6時間で $695 \pm 138 \text{ pg/ml}$ と最も高く、以後12時間で $649 \pm 126 \text{ pg/ml}$ 、24時間で $618 \pm 126 \text{ pg/ml}$ 、48時間で $567 \pm 74 \text{ pg/ml}$ 、72時間で $449 \pm 148 \text{ pg/ml}$ と徐々に下降したが、いずれの時間においても対照群に比して著しく高値 ($P < 0.01$)を示した(図4)。

2. 門脈血のグルカゴン値の変動

門脈血のグルカゴン値は、膵炎作製前が $334 \pm 123 \text{ pg/ml}$ ($n = 5$ 以下同じ)であり、急性膵炎作製後6時間で $1,399 \pm 521 \text{ pg/ml}$ 、24時間で $1,195 \pm 390 \text{ pg/ml}$ 、48時間で $1,123 \pm 416 \text{ pg/ml}$ 、72時間で $862 \pm 318 \text{ pg/ml}$ と下大静脈血に比べ約2倍の高値を示し、経時的変化は下大静脈血と同様のパターンを示した(図5)。

3. 血中インスリン値の変動

血中インスリン値は、無処置前値が $25.3 \pm 6.0 \mu\text{U/ml}$ ($M \pm SD$) ($n = 10$ 以下同じ)であり、対照群では、単開腹後6時間値が $20.1 \pm 2.6 \mu\text{U/ml}$ 、12時間値が $27.6 \pm 6.1 \mu\text{U/ml}$ 、24時間値が $24.2 \pm 5.8 \mu\text{U/ml}$ 、48時間値が $21.4 \pm 3.6 \mu\text{U/ml}$ 、72時間値が $20.8 \pm 3.1 \mu\text{U/ml}$ であった。一方、急性膵炎群では、膵炎作製後上昇し、6時間値が $30.5 \pm 8.0 \mu\text{U/ml}$ 、12時間値が $42.4 \pm 11.3 \mu\text{U/ml}$ と最高値に達し、対照群に比して高値 ($P < 0.05$)を示したが以後24時間値が $34.0 \pm 6.4 \mu\text{U/ml}$ 、48時間値が $18.4 \pm 3.6 \mu\text{U/ml}$ 、72時間値が $16.0 \pm 3.8 \mu\text{U/ml}$ と低下し、72時間では対照群に比し有意の低値 ($P < 0.05$)を示した(図6)。

4. 血糖値の変動

血糖についてみると、無処置前値が $125.0 \pm 21.5 \text{ mg/dl}$ ($M \pm SD$) ($n = 10$ 以下同じ)であり、対照群では、単開腹後6時間値が $150.2 \pm 15.1 \text{ mg/dl}$ 、12時間値が $112.0 \pm 7.8 \text{ mg/dl}$ 、24時間値が $82.8 \pm 7.9 \text{ mg/dl}$ 、48時間値が $75.6 \pm 8.6 \text{ mg/dl}$ 、72時間値が $62.1 \pm 6.9 \text{ mg/dl}$ であった。一方、急性膵炎群では、

表1 血中グルカゴンの変動

(MEAN \pm SD pg/ml)

	前	6hr.	12hr.	24hr.	48hr.	72hr.
単開腹群 n=10	165 \pm 40	297 \pm 91	266 \pm 91	237 \pm 42	189 \pm 56	159 \pm 31
急性膵炎群 静脈血 n=10	165 \pm 40	695 \pm 138	649 \pm 126	618 \pm 126	567 \pm 74	449 \pm 148
門脈血 n=5	334 \pm 123	1399 \pm 521	—	1195 \pm 390	1123 \pm 416	862 \pm 318

膵炎作成後6時間値が 185.2 ± 25.9 mg/dlと最高値を示し、12時間値が 151.2 ± 12.7 mg/dl、24時間値が 93.6 ± 10.9 mg/dl、48時間値が 76.0 ± 7.9 mg/dl、72時間値が 73.6 ± 8.6 mg/dlと、対照群および急性膵炎群ともに同様の推移を示し、6時間値においてのみ急性膵炎群は対照群に比し、有意の上昇 ($P < 0.05$) を示した (図7)。

5. I/G モル濃度比の変動

血中のインスリン・グルカゴンの変化を、インスリン、グルカゴンのモル濃度比 (I/G molar ratio) でみると、以下の如くであった。無処置前値は 2.95 ± 0.11 (M \pm SD) であり、対照群では、単開腹後6時間値が 1.20 ± 0.08 と低下し、12時間値が 1.74 ± 0.27 、24時間値が 2.09 ± 0.28 、48時間値が 2.63 ± 0.39 、72時

間値が 2.91 ± 0.42 と徐々に上昇した。一方、急性膵炎群では、膵炎作成後6時間値が 0.72 ± 0.38 と著明に低下し、12時間値が 1.43 ± 0.55 、24時間値が 1.42 ± 0.43 とやや上昇を示したが48時間値が 0.65 ± 0.27 、72時間値が 0.67 ± 0.20 と再び低下した (図7)。

急性膵炎時、IRG, IRI, 血糖は膵炎早期とともに上昇し、以後漸次低下したが、IRGは比較的低下はゆるやかで遅延反応がみられた。更にIRGと血糖は6時間でpeakに達するが、IRIは12時間でpeakに達し、IRGとIRIのpeakに達する時間に差がみられ、I/Gモル濃度比では、対照群に比し低値を示し、グルカゴン優位の状態が推測された (図8)。

IV. アルギニン負荷に対する急性膵炎時の血糖、IRI, IRG, I/G モル濃度比の変化 (図9)

1. 血糖値

無処置ラットに対するアルギニン負荷時の血糖値についてみると前値が 124.0 ± 9.8 mg/dl (n = 5以下と同じ) であるのに対し、アルギニン負荷後は1分目 142.0 ± 5.4 mg/dl、3分目 159.0 ± 9.5 mg/dl、5分目 161.0 ± 12.0 mg/dlと軽度の上昇をみた。急性膵炎6時間群では、前値が 183.0 ± 15.2 mg/dlであるのに対し、アルギニン負荷後は1分目 226.8 ± 11.0 mg

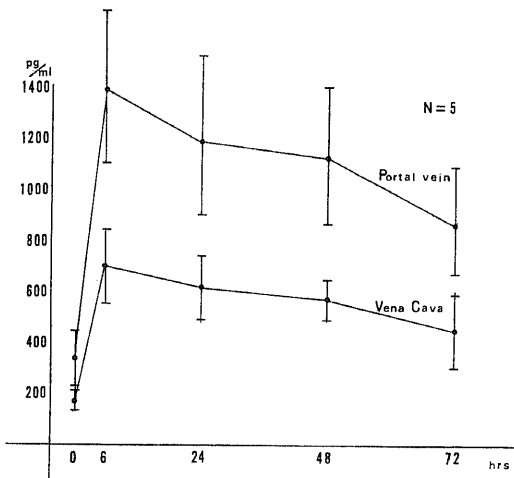


図5 急性膵炎時の門脈血及び下大静脈血のIRG

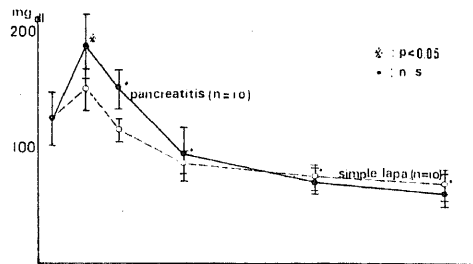


図6 血中インスリンの変動

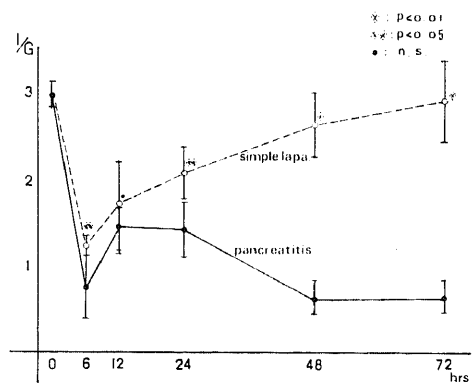


図7 血糖値とI/Gモル濃度比の変動

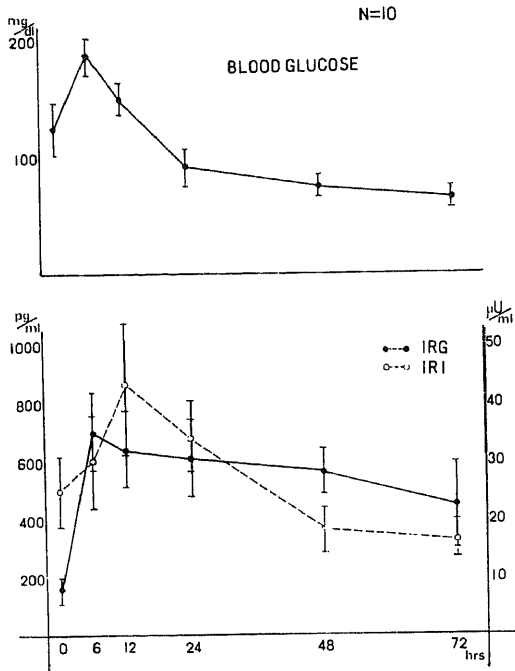


図8 急性膵炎時の血糖値と血中 IRG IRI の変動

/dl, 3分目 248.6 ± 16.4 mg/dl, 5分目 250.0 ± 4.8 mg/dl と無処置ラットに比べ有意に高値を認めた (P < 0.01). 急性膵炎 24時間群では, 前値が 93.0 ± 8.0 mg/dl であるのに対し, アルギニン負荷後は 1分目 136.0 ± 9.2 mg/dl, 3分目 142.0 ± 15.2 mg/dl, 5分目 138.5 ± 12.2 mg/dl であった. 急性膵炎 72時間群では, 前値が 62.5 ± 10.2 mg/dl であり, 1分目 102.0 ± 9.8 mg/dl, 3分目 110.4 ± 11.2 mg/dl, 5分目 120.5 ± 10.3 mg/dl といずれも軽度の上昇を示したが, 無処置ラットに比べ有意の差はなかった.

2. IRI

無処置ラットの IRI は前値が 28.3 ± 11.2 μ U/ml (n = 5 以下同じ) であるのに対し, アルギニン負荷後は 1分目に 92.0 ± 6.2 μ U/ml とその上昇をみ, 次いで 3分目 82.4 ± 3.0 μ U/ml, 5分目 80.4 ± 3.2 μ U/ml とゆるやかな低下を示した. 急性膵炎 6時間群では, 前値が 30.5 ± 3.4 μ U/ml であるのに対し, 負荷後は 1分目に 72.0 ± 3.4 μ U/ml と最高値を示し, 以後 3分目 62.3 ± 4.2 μ U, 5分目 59.0 ± 3.5 μ U/ml と低下をみた. 急性膵炎 24時間群では, 前値が 36.0 ± 3.2 μ U/ml であるのに対し, 負荷後は 1分目 66.4 ± 4.0 μ U/ml, 3分目 52.3 ± 4.0 μ U/ml, 5分目 48.0 ± 4.2 μ U/ml であった. 急性膵炎 72時間群では, 前値が 15.4 ± 3.0 μ U/ml

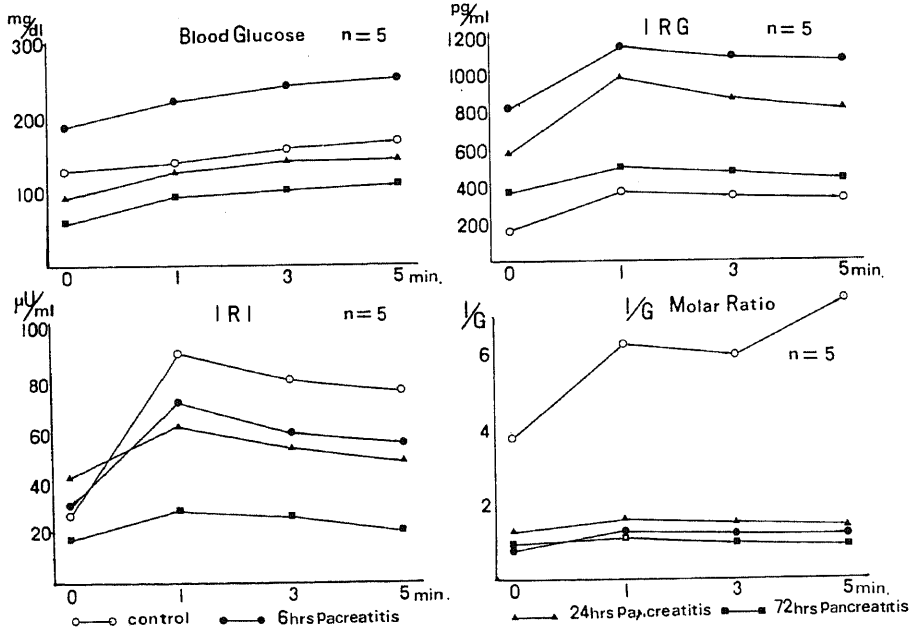


図9 Arginine 尾静脈負荷時の血糖, 血中 IRG, IRI, I/G 濃度比の変動

であり、負荷後は1分目 $36.2 \pm 3.0 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、3分目 $30.2 \pm 3.4 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、5分目 $24.0 \pm 4.2 \mu\text{U}/\text{ml}$ であった。急性膵炎群は無処置ラットに比べ、アルギニン負荷後のいずれの時間においてもIRIの有意の低下を認めた ($P < 0.01$)。

3. IRG

無処置ラットのIRGは、前値が $160 \pm 18 \text{pg}/\text{ml}$ ($n = 5$ 以下同じ)であるのに対し、アルギニン負荷後は1分目に $360 \pm 28 \text{pg}/\text{ml}$ と上昇し、その後、3分目 $314 \pm 29 \text{pg}/\text{ml}$ 、5分目 $246 \pm 21 \text{pg}/\text{ml}$ と低下した。急性膵炎6時間群では、前値が $897 \pm 29 \text{pg}/\text{ml}$ であるのに対し、負荷後は1分目に $1,280 \pm 126 \text{pg}/\text{ml}$ と上昇し、以後3分目 $1,204 \pm 209 \text{pg}/\text{ml}$ 、5分目 $1,120 \pm 263 \text{pg}/\text{ml}$ を示した。急性膵炎24時間群では、前値が $642 \pm 26 \text{pg}/\text{ml}$ であるのに対し、負荷後は1分目 $980 \pm 42 \text{pg}/\text{ml}$ 、3分目 $825 \pm 31 \text{pg}/\text{ml}$ 、5分目 $806 \pm 28 \text{pg}/\text{ml}$ であった。急性膵炎72時間群では、前値が $449 \pm 24 \text{pg}/\text{ml}$ であり、負荷後は1分目 $720 \pm 28 \text{pg}/\text{ml}$ 、3分目 $680 \pm 31 \text{pg}/\text{ml}$ 、5分目 $590 \pm 24 \text{pg}/\text{ml}$ であった。急性膵炎群では無処置ラットに比べ、前値、アルギニン負荷後のいずれの時間においても有意にIRGの上昇を認めた ($P < 0.01$)。

4. I/G モル濃度比

アルギニン負荷の各時点におけるIRIならびにIRGそれぞれの平均値についてI/Gモル濃度比を算出して比較した。

無処置ラットのI/Gモル濃度比は前値が 3.8 ± 0.3 であり、アルギニン負荷後は1分目 6.3 ± 0.4 、3分目 6.8 ± 0.6 、5分目 7.5 ± 0.3 であった。これに対し、急性膵炎6時間群では、前値が 0.8 ± 0.1 であり、負荷後は1分目 1.3 ± 0.2 、3分目 1.2 ± 0.3 、5分目 1.2 ± 0.2 であった。急性膵炎24時間群では、前値が 1.3 ± 0.4 であり、負荷後は1分目 1.6 ± 0.3 、3分目 1.5 ± 0.3 、5分目 1.4 ± 0.3 を示した。急性膵炎72時間群では、前値が 0.8 ± 0.2 であり、負荷後は1分目 1.2 ± 0.3 、3分目 1.0 ± 0.2 、5分目 0.9 ± 0.2 であった。このように急性膵炎群は無処置ラットに比べいずれもI/Gモル濃度比の低値を示したが、急性膵炎の各時間群間にはその差を認めなかった。

すなわち以上の所見は、Arginineの尾静脈負荷において、急性膵炎群は無処置ラットに比べ血糖、IRGの高値を、IRI、I/Gモル濃度比の低値を表わし、グルカゴン優位の状態を表わした。

V. 膵組織内グルカゴン値の変動

膵組織内グルカゴン値は、無処置ラットで $1.25 \pm 0.23 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ ($M \pm SD$) ($n = 8$ 以下同じ)で

あり、対照群では、単開腹後の6時間値が $1.27 \pm 0.12 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ 、24時間値が $1.10 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ 、48時間値が $1.25 \pm 0.17 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ 、72時間値が $1.13 \pm 0.11 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ であった。一方、急性膵炎群では、膵炎作製後の6時間値が $1.21 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ 、24時間値が $0.95 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ 、48時間値が $0.80 \pm 0.21 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ 、72時間値が $0.85 \pm 0.20 \mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{protein}$ を示した。急性膵炎群は、対照群と比較し、処置後6時間の時点において組織内グルカゴン値に有意の差を認めなかったが、その後24時間、48時間の時点ではその有意の低下 ($P < 0.10 \sim P < 0.01$)を示した。

また、膵組織内グルカゴンは、単開腹の各時間群間において差を認めなかったが、急性膵炎群では時間経過と共にその減少傾向を示し、膵炎作製後24時間、48時間、72時間において、無処置ラットおよび対照群に比べ、その有意の低下 ($P < 0.10 \sim P < 0.01$)を示した (図10)。

VI. 分離ラ島における形態学的変化と膵内分泌ホルモン動態

1. 急性膵炎ラットにおけるラ島の形態学的変化
微分干涉顕微鏡下の観察において、以下の如きラ島の所見がみられた。

正常ラットの分離ラ島は、被膜が明瞭で、辺縁の凹凸は少なく、重量感があり、表面には軽い凹凸をみた。一方、膵炎作製後72時間目の急性膵炎ラットのラ島では、被膜の一部破壊、辺縁部のくずれ、表面の凹凸変化、重量感の減少が認められた (写真7,8)。

2. 分離ラ島のグルカゴン動態

対照群の単開腹6時間目の分離ラ島におけるグルカゴン分泌は、incubation後30分値が $70 \pm 8 \text{pg}/\text{ml}/\text{islet}$ ($n = 25:5$ 匹 $\times 5$ islet, 以下同じ)であり、60

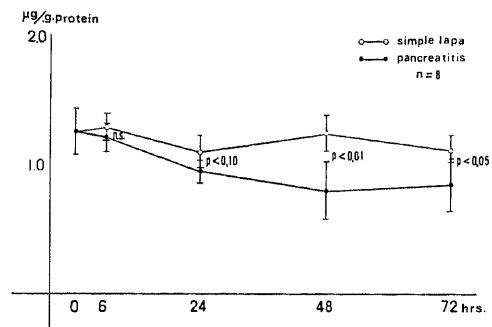


図10 膵組織内グルカゴンの変動

分値が $96 \pm 31\text{pg/ml/islet}$, 90 分値が $171 \pm 61\text{pg/ml/islet}$ と incubation 時間と共に増加した。急性膵炎群 6 時間目の分離ラ島におけるグルカゴン分泌では, incubation 後 30 分値が $20 \pm 10\text{pg/ml/islet}$, 60 分値が $72 \pm 16\text{pg/ml/islet}$, 90 分値が $92 \pm 42\text{pg/ml/islet}$ であり, 対照群に比し 30 分値および 90 分値で有意の低値 ($P < 0.01, P < 0.05$) を示し, ほぼ直線的増加の傾向をみた。対照群 24 時間目では, incubation 30 分値が $99 \pm 14\text{pg/ml/islet}$, 60 分値が $140 \pm 12\text{pg/ml/islet}$, 90 分値が $164 \pm 52\text{pg/ml/islet}$ と 6 時間目の所見との間に有意差をみない。急性膵炎 24 時間目では, incubation 30 分値が $24 \pm 4\text{pg/ml/islet}$, 60 分値が $42 \pm 18\text{pg/ml/islet}$, 90 分値が $100 \pm 25\text{pg/ml/islet}$ であり, いずれも対照群より低値が認められたが, 急性膵炎群 6 時間目の所見との間に有意差はなかった。対照群 72 時間目では, incubation 30 分値が $56 \pm 12\text{pg/ml/islet}$, 60 分値が $104 \pm 13\text{pg/ml/islet}$, 90 分値が $130 \pm 24\text{pg/ml/islet}$ であり, 6 時間目, 24 時間目に比べて分泌量はやや低値を示したが, 直線的増加が認められた。急性膵炎群 72 時間目では, incubation 30 分値が $19 \pm 5\text{pg/ml/islet}$, 60 分値が $23 \pm 3\text{pg/ml/islet}$, 90 分値が $39 \pm 10\text{pg/ml/islet}$ と低値を示し, 特に incubation 90 分後の分泌量には 6 時間目, 24 時間目の値に比べ有意の低下 ($P < 0.01$) が認められた (図 11)。

3. 分離ラ島のインスリン動態

対照群 6 時間目のインスリン分泌は, incubation 30 分値が $36 \pm 8\mu\text{U/ml/islet}$ ($n = 25:5$ 匹 \times 5islet, 以

下同じ), 60 分値が $76 \pm 14\mu\text{U/ml/islet}$, 90 分値が $90 \pm 22\mu\text{U/ml/islet}$ であり, incubation 時間と共にその分泌量はほぼ直線的に増加した。急性膵炎群 6 時間目のインスリン分泌では, incubation 30 分値が $32 \pm 8\mu\text{U/ml/islet}$, 60 分値が $64 \pm 18\mu\text{U/ml/islet}$, 90 分値が $84 \pm 12\mu\text{U/ml/islet}$ であり, ほぼ直線的増加を認めたが, incubation 後のいずれの時間においても対照群との間に有意の差はみなかった。対照群 24 時間目では, incubation 30 分値が $41 \pm 9\mu\text{U/ml/islet}$, 60 分値が $80 \pm 18\mu\text{U/ml/islet}$, 90 分値が $107 \pm 28\mu\text{U/ml/islet}$ であり, 急性膵炎群 24 時間目では, incubation 30 分値が $40 \pm 6\mu\text{U/ml/islet}$, 60 分値が $63 \pm 12\mu\text{U/ml/islet}$, 90 分値が $91 \pm 13\mu\text{U/ml/islet}$ を示し, 両群とも incubation 時間と共にほぼ直線的に増加したが, 両群間に有意の差はなかった。一方, 対照群 72 時間目では, incubation 30 分値が $36 \pm 6\mu\text{U/ml/islet}$, 60 分値が $70 \pm 13\mu\text{U/ml/islet}$, 90 分値が $90 \pm 20\mu\text{U/ml/islet}$ であり, 6 時間, 24 時間目の値に比べ差を認めなかった。しかし, 急性膵炎群 72 時間目では, incubation 30 分値が $25 \pm 4\mu\text{U/ml/islet}$, 60 分値が $32 \pm 12\mu\text{U/ml/islet}$, 90 分値が $38 \pm 10\mu\text{U/ml/islet}$ であり, 対照群に比べ低値 ($P < 0.01$) を示し, 更に急性膵炎群の 6 時間目, 24 時間目の値と比較しても, 有意に低値 ($P < 0.05$) を示した (図 12)。

このように急性膵炎時の分離ラ島におけるグルカゴン分泌は, incubation の時間につれて増加するが, 急性膵炎群では単開腹対照群に比べ分泌の低下を認め, 膵炎の進行と共に著明となった。急性膵炎時のインスリン分泌は, 72 時間でのみ単開腹対照群に比べ有意の

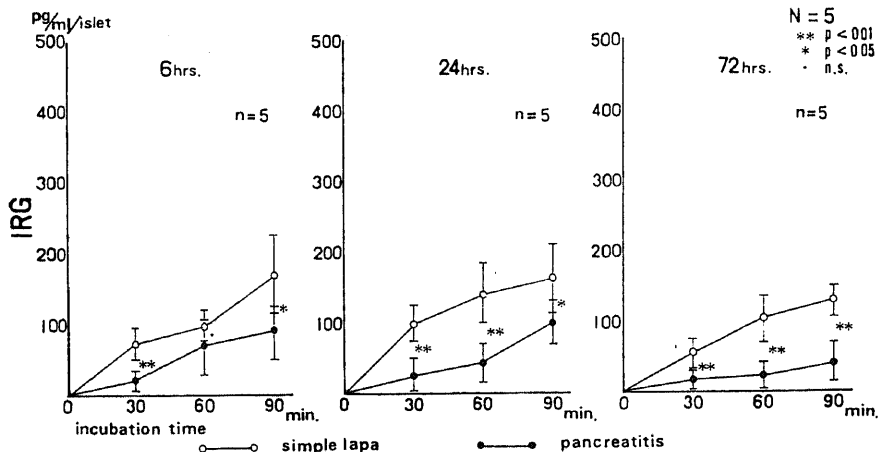


図11 対照群および急性膵炎群における分離ラ島のグルカゴン分泌所見 (krebs Ringer+Glucose 5.5mM+Arginine 20mM 負荷)

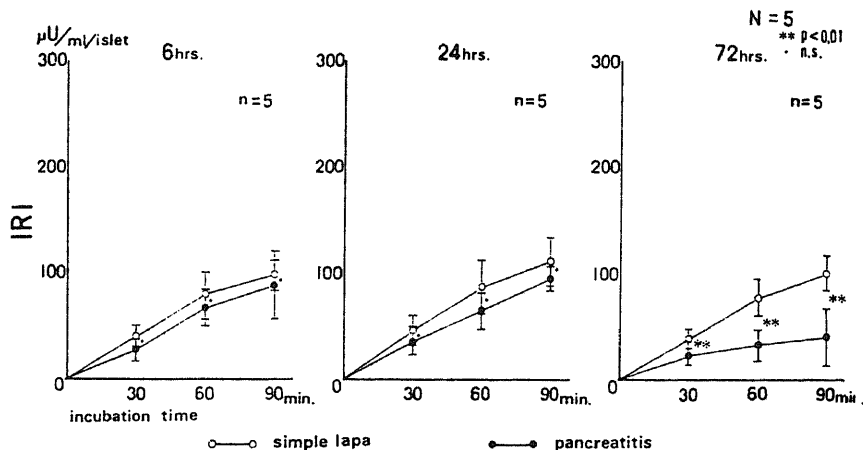


図12 対照群および急性膵炎群における分離ラ島のインスリン分泌所見 (krebs Ringer+Glucose 5.5mM+Arginine 20mM 負荷)

低下を示し、 α 細胞と β 細胞の機能低下に時間的な差が認められた。

考 察

急性膵炎の発生機序および膵外分泌動態に関する研究はこれまで種々の方面から検討され、詳細な検索がなされている。一方、急性膵炎時のラ島の変化やホルモン分泌動態に関する検索は少く、特に、糖代謝異常とラ島ホルモンの分泌異常との関連は明らかでない。

ところで、各種の方法により作製された急性膵炎の実験モデルが研究に供されているが、最近では実験的膵炎と臨床的膵炎の種属間の差異についても認識され、人に類似の膵炎発生条件での検討が要求されてきた⁴¹⁾。そこで著者は、胆汁の膵管内逆流にて生ずる Block らの方法²⁸⁾により実験的急性膵炎を作製したが、本法は Opie⁴²⁾の common channel theory に近い膵炎の発生機序に基づいている。この方法による急性膵炎は、膵外分泌腺細胞の空胞化と、間質の浮腫、出血、好中球の出現が認められ、病理組織学的に間質性浮腫性膵炎²⁵⁾であり、臨床例における浮腫性膵炎の組織像と類似している。

急性膵炎の経過中に糖代謝異常を認めることはよく知られ、糖尿の出現頻度は症例の 4.5～34.3% であり、高血糖は 16～90.9% に出現することが報告されている。これらの出現頻度に大きな差がみられるのは、膵炎の重症度と検査時期の相違によるものと思われる。しかし、重症型の一部を除き、急性膵炎の糖代謝異常は一過性のことが多く、糖尿病へ移行することは稀である。急性膵炎の早期には、十分な検査が行われ

にくく、この時期の内分泌動態については報告が少ない。松田ら⁴³⁾は、急性膵炎患者 22 例に対し発病 2～14 日に静脈内 glucose 負荷試験を行ったところ、20 例で血糖の回復時間が遅延し、そのうちの 10 例は特に著明であったと報告しているが、この成績は急性膵炎の早期に耐糖能が低下することを示唆したものとえよう。

本症にみられる糖代謝障害の発生は、膵炎病変に基づくラ島 β 細胞障害が生じ、インスリン分泌の低下をきたすことによると推測されていたが、本症における高血糖はほとんど一過性であることから、むしろ α 細胞刺激によるグルカゴンの分泌亢進が関与していると推測する報告¹⁾がみられる。また、Bridgewater ら⁸⁾の動物実験が示すごとく、塩化コバルトを投与することにより α 細胞を障害させた犬に、胆汁性膵炎を生じさせると、血糖上昇が阻止されることや、他方、高血糖を伴うアロキサン糖尿病に膵炎を作製すると、さらに血糖が上昇することなどの所見は、高血糖の発生に α 細胞機能が関連していることを示すものとして注目される。

インスリンの免疫学的測定が可能となって以来、種々の病態時におけるインスリン動態が解明されるようになったが、糖代謝異常を論ずる際には、インスリン動態のみでは理解できない点も多く、グルカゴン動態との関係が重要視されるにいたった。1968 年 Unger ら⁸⁾によって膵グルカゴンに特異的に反応する抗血清 30K が見い出され、グルカゴンに関する研究が徐々に増加してきたが、急性膵炎時のグルカゴン動態についての検索は少い。Paloyan ら¹⁰⁾は、実験的および臨床

的急性肺炎でグルカゴンの分泌亢進を認めたと報告し、Dayら²³⁾は、急性肺炎時血中グルカゴンが軽症例で上昇するが、重症例ではむしろ低下することを認めた。更にDanowitzら²⁴⁾は、急性肺炎患者の血中グルカゴンは正常人に比べ9.2～13.8倍の高値を示したと報告している。また、Mizumaら⁴⁰⁾によれば、Endotoxin注入による実験的肺炎でも、3～24時間後に血中グルカゴンが上昇したとしている。著者の実験成績では、急性肺炎時に血中グルカゴンの上昇が認められ、肺炎早期の高血糖と血中グルカゴンのpeakとは時間的に一致していたが、インスリンはやや遅れてpeakに達する所見がみられた。したがって、血糖、IRIおよびIRGの時間的推移所見から、インスリンの分泌障害に基づくよりもグルカゴンの過剰分泌が血糖上昇に大きな役割を持っていると推察された。ところで、Samolsら⁴⁵⁾やCrochfordら⁴⁶⁾により、グルカゴンには血糖上昇作用とは別に、インスリン分泌作用があることが認められている。すなわち、グルカゴンが肝においてAdenyl cyclaseを刺激してATPからcyclic AMPを生成させ、このcyclic AMPが直接膵組織に作用してインスリン分泌を促進するものと考えられている⁴⁷⁾。したがって、急性肺炎早期におけるインスリンの上昇には、グルカゴンの分泌亢進の関与が可成りあるものと推定される。また、急性肺炎群では高血糖時にI/Gモル濃度比の著明な低下が認められ、いずれの時間においてもグルカゴン優位の状態が示された。更に、著者のアルギニン尾静脈負荷の実験結果でも、アルギニン負荷時の血糖、IRI、IRGの反応は、肺炎の時間経過と共に低くなり、I/Gモル濃度比において、明らかにグルカゴン優位の状態が認められた。

次に、膵組織内グルカゴン値の検索では、急性肺炎群は対照群に比べ低値を示したが、この所見は肺炎によるグルカゴンの血中への放出の結果によると考えられた。杉井²⁵⁾は、急性肺炎時における膵組織内インスリンの低下を認め、インスリン合成能および分泌能の減退を報告しているが著者の成績との関連において関心がもたれる。

ところで、このように測定された血中のグルカゴン値およびインスリン値、あるいは膵組織内のグルカゴン値が、膵ラ島自体の機能を直接に表わすとはいえない。すなわち、Bloomら⁴⁸⁾は、猿に騒音、直腸内刺激、頭部の電気刺激などのストレスを加え、血中グルカゴンの著明な上昇を認め、また、Galboら⁴⁹⁾は、単開腹による血中グルカゴンの増加を述べている。これらの所見は、膵内分泌ホルモン動態に膵臓以外の他の多くの因子が影響をおよぼすことを示すものである。

それ故に、ラ島細胞レベルでのホルモン動態の検索が重要と思われる。

著者は、膵内分泌細胞機能をより直接的に検索するため、collagenase法により分離したラ島を利用し、in vitroにて急性肺炎時のラ島におけるグルカゴン、インスリン動態について検討した。分離ラ島のホルモン動態の研究は、糖尿病に関しては多く行われているが、Zieglerら⁵⁰⁾、Oliverら⁵¹⁾は、Arginineがin vitroにおいても α 細胞、 β 細胞を共に刺激することを報告している。そこで、medium中にArginine20mMを加え、更にin vivoと同じ条件下に近づけるためglucose 5.5mM加え、ラ島の分泌負荷実験を行った。ラ島の分泌能は、incubation 90分⁵²⁾にてほぼplateauに達するといわれており、また、岡本ら⁵³⁾は、incubation 90分後のmedium内のホルモン量は分離ラ島の分泌能と共に合成能を反映すると報告している。したがって、著者は分離ラ島を90分間incubationした。急性肺炎群のラ島においては、6時間群ですでにグルカゴンの分泌と合成能の低下が認められ肺炎の時間経過と共に著明となったが、インスリンの分泌と合成能は72時間群ではじめて有意の低下を示した。この所見から、急性肺炎時には、肺炎病変によりまず α 細胞が障害され、グルカゴンの分泌能、合成能が減退し、次いで、 β 細胞が障害を受け、インスリンの分泌、合成障害が起こることが推測された。また、分離ラ島の形態学的観察でも、急性肺炎群においては、ラ島の辺縁部の変化が著明であった。Orci⁵⁴⁾の蛍光抗体法によるラ島の細胞分布の研究は、 α 細胞がラ島周辺部に多いことを示し著者の検索所見と一致するが、急性肺炎時においてはグルカゴン陽性細胞の減少が認められた。

ところで、急性肺炎時において、血中グルカゴンは上昇し、膵組織内グルカゴンは低下し、分離ラ島におけるグルカゴンの分泌、合成能の低下が生ずることがみられた。したがって、血中グルカゴン動態と膵組織内および分離ラ島のグルカゴン動態との間に解離が認められる。この解離の原因としては、急性肺炎時、 α 細胞のグルカゴンの分泌や合成能は減退するが、肺炎の炎症の波及に基づきラ島の被膜の一部に破壊を生じ、その結果ラ島辺縁部に多い α 細胞が障害を受け、グルカゴンの血中への逸脱を生ずることによるものと推測される。また、急性肺炎時の血中グルカゴン上昇に対する肝機能の影響、あるいはグルカゴンの膵外における代謝障害が推測される。グルカゴン代謝についてはまだ明らかでない点も多く、Coxら⁵⁵⁾は、I¹³¹-glucagon投与後におけるその体内分布は、腎、肝、

血漿、筋肉の順に認められ、その分解率は肝が最も高く、次いで腎、血漿、筋肉の順であったと報告している。臨床的、実験的に観察される高グルカゴン血症に関しても、肝における分解率の低下をはじめいくつかの機序が考えられている^{59)~67)}。Bucker ら⁵⁸⁾、Price ら⁵⁹⁾は高グルカゴン血症の原因をその分泌亢進によると推測しているのに対し、Leffert ら⁶⁰⁾、Starzl ら⁶¹⁾の実験は、分泌亢進よりもむしろ分解の低下を推定せしめた。また、Unger ら⁶²⁾も門脈内と末梢血管内のグルカゴンの濃度に差を認め、Assan⁶³⁾も肝疾患時のグルカゴンの検索より、グルカゴン代謝に肝が重要な役割を果たしていることを示している。これらの報告は、いずれもグルカゴンの代謝がおもに肝で行われることを示しているが、その機序に関しては、今後更に詳細な検討を要すると思われる。

結 論

急性膵炎時の膵内分泌動態を知ることは、病態の解明のみならず、治療上にも重要な意義があると思われる。著者はラットに実験的急性膵炎を作製して、血中、膵組織内および分離ラ島における膵内分泌動態、特にグルカゴン動態を検索し、以下の結論を得た。

1. 作製された急性膵炎の病理組織学的所見として、膵外分泌腺細胞の空胞化、間質の浮腫、軽度の出血がみられた。また、グルカゴン蛍光抗体法によるラ島の検索ではグルカゴン陽性細胞の配列の乱れ、陽性細胞の減少、蛍光の低下が認められた。

2. 急性膵炎時、血中グルカゴンおよびインスリンは上昇するが、血中グルカゴンの上昇は早期にみられ、両者の最高値に達するまでの時間に差が認められた。また、高血糖は高グルカゴン血症によるものと推測された。

3. Arginine の尾静脈負荷では、急性膵炎群は無処置群に比べ、IRG, IRI, I/G モル濃度比においてグルカゴン優位の状態を示した。

4. 急性膵炎群の膵組織内グルカゴンは、単開腹対照群の膵組織内グルカゴンに比し、低値を示した。

5. 急性膵炎群の分離ラ島におけるグルカゴンおよびインスリンの分泌ならびに合成能は、単開腹対照群に比し、低下を示した。また、 α 細胞の機能低下は β 細胞のそれより先行し、両者間に時間的な差が認められた。

以上より、急性膵炎時において、血中グルカゴン動態と膵組織内および分離ラ島のグルカゴン動態との間に解離が認められた。

すなわち、急性膵炎時のラ島細胞障害としては、 β 細胞より α 細胞の障害が先行することが示唆され、本症の内分泌治療に際しては、これらの点の配慮が期待される。

(本論文の要旨は、第20回日本消化器病学会秋季大会、第65回日本消化器病学会総会、第80回日本外科学会総会において発表した。)

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました宮崎逸夫教授、中川原儀三教授に深謝いたします。また直接御指導、御助言を戴いた木南助教授、さらに生化学的検索に御助言を戴いた富山医科薬科大学生化学岡本宏教授、病理学的検索に御指導を戴いた金沢大学第1病理中西功夫助教授に感謝の意を表します。さらに、本研究遂行に際し御協力いただいた金沢大学がん研究所付属病院外科ならびに金沢大学医学部第2外科教室各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Richma, A. : Acute pancreatitis. *Amer. J. Surg.*, **8**, 246 - 274(1956).
- 2) 建部高明: 膵の機能(V), 急性膵炎と代謝異常. *代謝*, **10**, 1213 - 1219(1973).
- 3) 大根田 昭・松田 精: 膵炎と糖代謝障害. *最新医学*, **27**, 1975 - 1802(1972).
- 4) 石井兼央・土屋涼一: 膵疾患と代謝異常, 膵臓(基礎と臨床). 202 - 232頁, 東京, 金原出版, 1976.
- 5) Calzavara, D. : Die akute hochgradige Hyperglykämie als charakteristisches Frühsymptom bei experimentall erzeugten pankreas nekrosen. *Zentralbe. F. Chir.*, **51**, 1405 - 1406(1924).
- 6) Bridgewater, A. B., Ogawa, T., Chiles, T. & Necheles, H. : Transient increase in blood suger following experimental pancreatitis. *Am. J. Physiol.*, **200**, 851 - 854(1961).
- 7) Berson, S. A. & Yalow, R. S. : Immunoassay of Endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.*, **39**, 1157 - 1175(1960).
- 8) Unger, R. H., Eisentraut, A. M., McCall, M. S., Keller, S., Lanz, H. C. & Madison, L. L. : Glucagon antibodies and their use for immunoassay for glucagon. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **102**, 621 - 623(1959).
- 9) 早川哲夫・野田愛司・鈴木敏行: 膵内分泌機能試験. 膵炎のすべて(内科シリーズNo29)134 - 144頁, 東京, 南江堂, 1978.
- 10) Paloyan, E., Paloyan, D. & Harper, P. V. : The role of glucagon hypersecretion in the relationship of pancreatitis and hyperpara-

thyroidism. Surg., 62, 167 - 173(1967).

11) Bergmann, G. : Internistisches Korreferat zur Chirurgie des Pankreas. Arch. F. Klin. Chir., 148, 388 - 397(1927).

12) 葉山義雄・石井正夫・久保田義弘・福田齊・星田義一・吉村博・山崎利恒・中山賢: 膵炎の実験的研究. 急性膵炎の糖代謝について. 日内会誌, 48, 726 - 727(1959).

13) 石川浩一・田島芳雄・黒田慧・石原敬夫: 急性膵炎の病態と治療. 日本臨床, 28, 124 - 136(1970).

14) 佐藤長夫: 実験的急性膵炎における膵内分泌動態に関する研究. 日外会誌, 73, 649 - 661(1972).

15) Day, J. L., Knight, M. & Condon, J. R. : The role of pancreatic glucagon in the pathogenesis of acute pancreatitis. Clin. Sci., 43, 597 - 603(1972).

16) Danowitz, M., Hendler, R., Spiro, H. M., Sinder, H. J. & Felig, P. : Glucagon secretion in acute and chronic pancreatitis. Ann. Intern. Med., 83, 778 - 781(1975).

17) 杉井衛: 実験的急性膵炎における膵内分泌動態に関する研究. 十全医会誌, 86, 344 - 366(1977).

18) Paloyan, D. Paloyan, E., Worobec, R., Ernst, K., Deininger, E. & Harper, P. V. : Serum glucagon levels in experimental acute pancreatitis in the dog. Surg. Foun., 17, 348 - 351(1966).

19) Lankish, P. G., Wincker, K. Bokerman, M., Schmit, H. & Creutzfeld, N. : The influence of glucagon on acute experimental pancreatitis in the rat. Scand. J. Gastroent., 9, 725 - 729(1974).

20) Unger, R. H., Parada, E. A. Müller, W. A. & Eisentraut, A. M. : Studies of pancreatic Alpha cell function in normal and diabetic subject. J. Clin. Invest., 49, 837 - 848(1970).

21) Unger, R. H., Madison, L. L., Müller, W. A. : Abnormal Alpha cell function in diabetes. Diabetes, 21, 301 - 307(1972).

22) Müller, W. A., Faloona, G. R., Parada, E. A. & Unger, R. H. : Abnormal Alpha-cell function in diabetes. New. Eng. J. Med., 283, 109 - 115(1970).

23) Unger, R. H. : Pancreatic glucagon in health and disease. Adv. Intern. Med., 17, 265 - 288(1971).

24) Unger, R. H. : Glucagon and diabetes

mellites. Adv. Metab. Disord., 6, 73 - 98(1972).

25) Müller, W. A., Faloona, G. R. & Unger, R. H. : Hyperglucagonemia in diabetic ketoacidosis. Am. J. Med., 54, 52 - 57(1973).

26) Varanic, M. Pek, S. & Kawamori, R. : Increased "Glucagon Immunoreactivity" in Plasma of totally depancreatized dog. Diabetes, 23, 905 - 912(1974).

27) 井村裕夫・松倉茂・池田正毅・清野裕・田港朝彦・後藤康生・井上喜通・桜井英雄・葛谷英嗣・倉八博之: 糖尿病の病態とホルモン動態, ホルモンと臨床, 24, 9 - 17(1976).

28) Block, M. A., Wakin, K. G. & Baggenstoss, A. H. : Experimental studies concerning of factors in the pathogenesis of acute pancreatitis. Surg., 99, 83 - 90(1954).

29) 藤田恒夫・渡辺雪子: ラングエルハンス島のA,B,D細胞の染色法. 臨床検査, 5, 29 - 32(1972).

30) Baum, J., Simons, B. E., Unger, R. H. & Madison, L. L. : Localization of glucagon in the Alpha cells in the pancreatic islet by immunofluorescent technics. Diabetes., 11, 371 - 374(1962).

31) Okada, N., Takaki, R. & Kitagawa, M. : Histologic and immunofluorescent studies on the site of origin of glucagon in mammalian pancreas. J. Hist. Cyto., 16, 405 - 409(1968).

32) Lomsky, R., Langr, F. and Vortel, V. : Demonstration of glucagon in islet cell adenomas of the pancreas by immunofluorescent technic. Amer. J. Clin. Pathol., 51, 245 - 250(1969).

33) Eisentraut, A. M., Whissen, N. & Unger, R. H. : Incubation damage in the radio-immunoassay for Human plasma glucagon and its prevention with "trasyrol". Am. J. Med. Sci., 255, 137 - 142(1968).

34) Herbert, V., Lau, K. S., Gottlib, C. & Bleicher, S. J. : Coated charcoal immunoassay of insulin. J. Clin. Endocr. Metab., 25, 1375 - 1384(1965).

35) Kenny, A. J. : Extractable glucagon of the human pancreas. J. Clin. Endocrinol., 15, 1089 - 1105(1955).

36) 大根田昭: グルカゴン. 人体成分のサンプリング. ホルモン. 154 - 191頁, 東京, 講談社. 1974.

- 37) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. Farr, A. L. & Ranoall, R. J. : Protein measurement with the folinphenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 - 275(1951).
- 38) Lacy, P. E. & Kostianovsky, M. : Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes*, **16**, 35 - 39(1967).
- 39) Okamoto, H., Noto, Y., Miyamoto, S., Mabuchi, H. & Takeda, R. : Inhibition by somatostatin of insulin release from isolated pancreatic islet. *FEBS Letters*, **54**, 103 - 105(1975).
- 40) 秋本龍一・中川原儀三・木村捷一・山崎軍治・杉井 衛・小島靖彦・大野 進・水上哲秀・宮崎逸夫: ラット膵ラ氏島移植の実験的研究(第I報). *移植*, **10**, 185 - 187(1975).
- 41) 近藤直嗣・伊藤 俊哉: 急性膵炎の病理. *膵臓*, 233 - 235 頁, 東京, 金原出版. 1976.
- 42) Opie, E. L. : Relation of cholelithiasis to disease of the pancreas and fat necrosis. *Am. J. M. Soc.*, **121**, 27 - 43(1901).
- 43) 松田昌三: ブドウ糖静脈内負荷試験法による糖尿病並びに膵臓疾患の糖代謝について. *東北医誌*, **49**, 693 - 702(1954).
- 44) K. Mizuma, sapporo Japan, P. V. Delamater, P. C. Lee, H. E. Appert. & J. M. Howard. : Changing circulating levels of lipids, insulin and glucagon during experimental acute pancreatitis. *Surg. Gynec. Obstet.*, **147**, 577 - 582(1978).
- 45) Samols, E., MARRI, G. & Marks, V. : Promotion of insulin secretion by glucagon. *Lancet*, **11**, 415 - 416(1965).
- 46) Crockford, P. M., Porte, D. Jr., Wood, F. C. Jr. & Willam, R. H. : Effect of glucagon on serum insulin, plasma glucose and free fatty acids in man. *Metabolism*, **15**, 4 - 22(1966).
- 47) Malaisse, W. J., Malaisse - Lage, F. & Mayhew, D. : Possible role for the adenylcyclase system in insulin secretion. *J. Clin. Invest.*, **46**, 1724 - 1734(1967).
- 48) Bloom, S. R., Daniel, P. M. Johnston, D. J., Ogawa, O. and Pratt, O. E. : Release of glucagon, induced by stress. *Quart. J. Exper. Physiol.*, **58**, 99 - 108(1973).
- 49) Galbo, H., Richter, E. A., Christensen, N. J. & Holst, J. J. : Sympathetic control of metabolic and hormonal responses to exercise in rats. *Acta physiol. Scand.*, **102**, 441 - 449(1978).
- 50) Ziegler, M., Hahn, H. J., Ziegler, B., Kohler, E. & Friedlen, H. : Paradoxical glucagon response after stimulation with glucose and arginine in isolated pancreatic sand rat islets. *Diabetologia*, **11**, 63 - 69(1975).
- 51) Oliver, J. R., Williams, V. L. & Wright, P. H. : Studies on glucagon secretion using isolated islets of Langerhans of the rat. *Diabetologia*, **12**, 301 - 306(1976).
- 52) 山崎軍治: 膵ランゲルハンス島の保存およびその門脈内移植に関する実験的研究. *十全医会誌*, **85**, 56 - 72(1977).
- 53) 岡本 宏: 膵ランゲルハンス島の分離とインスリン合成. *蛋白質, 核酸, 酵素*, **24**, 28 - 36(1979).
- 54) Orci, L. & Unger, R. H. : Functional subdivision of islets of Langerhans and possible of D-cells. *Lancet*, **2**, 1243 - 1245(1975).
- 55) Cox, R. W., Henley, E. D., Narahara, H. T., Van Arsdell, P. P. Jr. & Williams, R. H. : Studies on the metabolism of glucagon - I¹³¹ in rats. *Endocrinology*, **60**, 277 - 284(1957).
- 56) Marco, J., Diego, J., Villanueva, M. L., Diaz-Fierros, M. Valverde, I. & Segovia, J. M. : Elevated plasma glucagon levels in cirrhosis of the liver. *New. Eng. J. Med.*, **289**, 1107 - 1111(1973).
- 57) Sherwin, R., Joshi, P., Hendler, R., Felig, P. & Com, H. D. : Hyperglucagonemia in Laennec's cirrhosis : the role of portal-systemic shunting. *New. Eng. J. Med.*, **290**, 239 - 242(1974).
- 58) Bucher, N. L. R. & Swaffield, M. M. : Regulation of hepatic regeneration in rats by synergistic action of insulin and glucagon. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 1157 - 1160(1975).
- 59) Price, J. B., Takeshige, K., Max, M. H. & Voorhees, A. B. : Glucagon as the portal factor modifying hepatic regeneration. *Surg.*, **72**, 74 - 82(1972).
- 60) Leffert, H., Alexander, H. M., Faloona, G. Rubalcava, B. & Unger, R. h. : Specific endocrine and hormonal receptor changes associated with liver regeneration in adult rats.

Proc. Nat. Acad. Sci., 72, 4033-4036(1975).

61) **Starzl, T. E., Watanabe, K., Porter, K. A. & Putnam, C. W.** : Effects of insulin, glucagon and insulin/glucagon infusions on liver morphology and cell division after portacavalshunt in dogs. *Lancet*, 1, 821 - 825 (1976).

62) **Unger, R. H., Ohneda, A., Valverde, L.,**

Eisentraut, A. M., & Exton, J. : Characterization of the responses of circulating glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal and intravenous administration of glucose. *J. Clin. Invest.*, 47, 48-65(1968).

63) **Assan, R.** : In vitro metabolism of glucagon, P47-59. In P. J. Lecebvre & R. H. Unger(ed), *Glucagon*, Pergamamon Press, Oxford, 1972.

Experimental Studies on the Endocrine Function in Acute Pancreatitis with Reference to Alpha Cell

Toshinari Mura, Department of Surgery II (Director: Prof. I. Miyazaki) School of Medicine, Kanazawa University and Surgical Department of Cancer Research Institute, (Director: Prof. G. Nakagawara), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. J. Juzen. Med. Soc., 89, 403-421 (1980).

Abstract This experimental study was carried out to clarify the change of pancreatic endocrine function, especially relating to Alpha cell, in acute pancreatitis. Male Donryu rats used in the studies were divided into 2 groups, consisting of a group of rats with acute pancreatitis that was induced by Block's method, and a group of rats with simple laparotomy that served as the control. And both groups were studied on histological changes of pancreatic endocrine cell, levels of glucose, glucagon and insulin concentrations in serum or pancreas tissue, and release of glucagon and insulin from isolated islets of Langerhans obtained by the collagenase digestion method.

The following results were obtained.

1. In the rats with acute pancreatitis, ordinary histological examination of the pancreas revealed no remarkable change of endocrine cells and a marked degeneration of exocrine cells. However, in examination by the fluorescence microscopic method, the glucagon-positive cells, that were found in the peripheral region of islet, showed the disorder of their arrangement and the fall of their fluorescence.
2. Glucagon and insulin levels in serum were raised at the early stage of acute pancreatitis. Namely, after acute pancreatitis started, the peak of glucagon levels occurred at the 6th hr, and that of insulin levels occurred at the 12th hr.
3. A marked response of serum glucagon levels due to administration of arginine was demonstrated in the rats with acute pancreatitis as compared with the control rats.
4. Glucagon levels of the pancreas tissue in the rats with acute pancreatitis were significantly lower than that in the control rats.
5. In determination of the levels of glucagon and insulin released from isolated islets of Langerhans, the rats with acute pancreatitis showed a reduction of function in endocrine cells, the secretion and synthesis function diminished at the 6th hr in α cells and at the 72th hr in β cells.

These findings, that were observed in the rats with acute pancreatitis, showed that there was a significant dissociation of glucagon levels between serum and pancreas tissue or isolated islet. And furthermore, it was assumed that the damage of α cells occurred more rapidly than that of β cells.

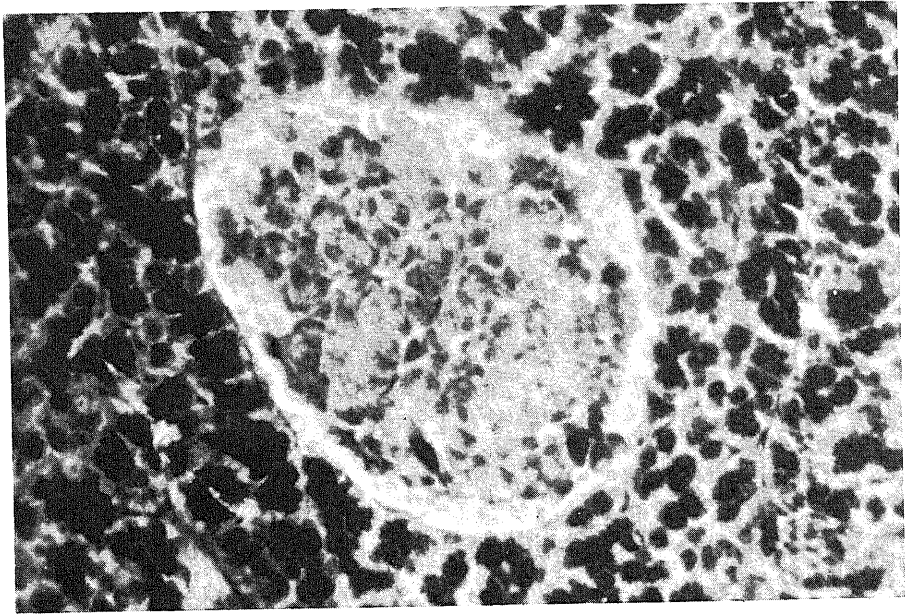


写真1 無処置ラットのラ島所見

A F 染色×200

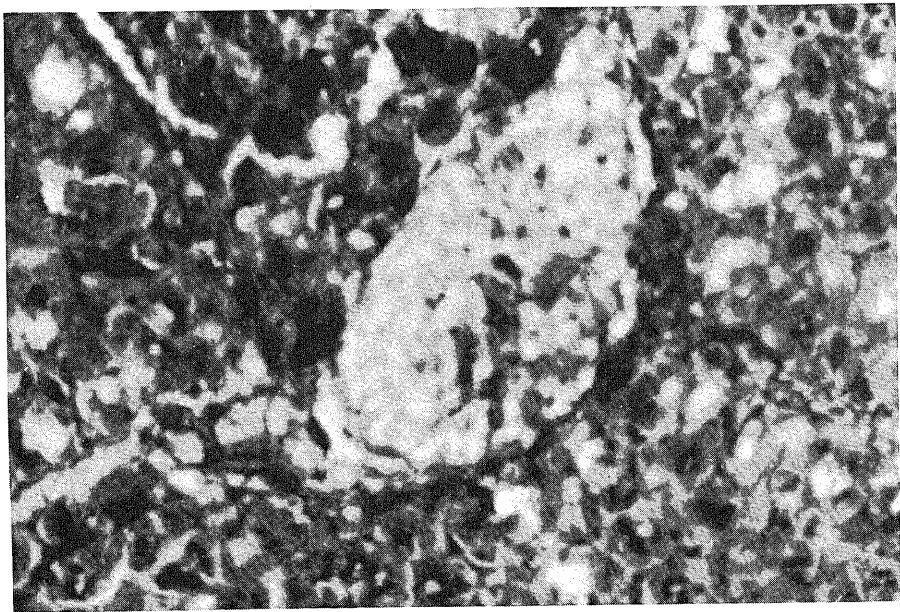


写真2 肺炎作製24時間後のラ島所見

A F 染色×200

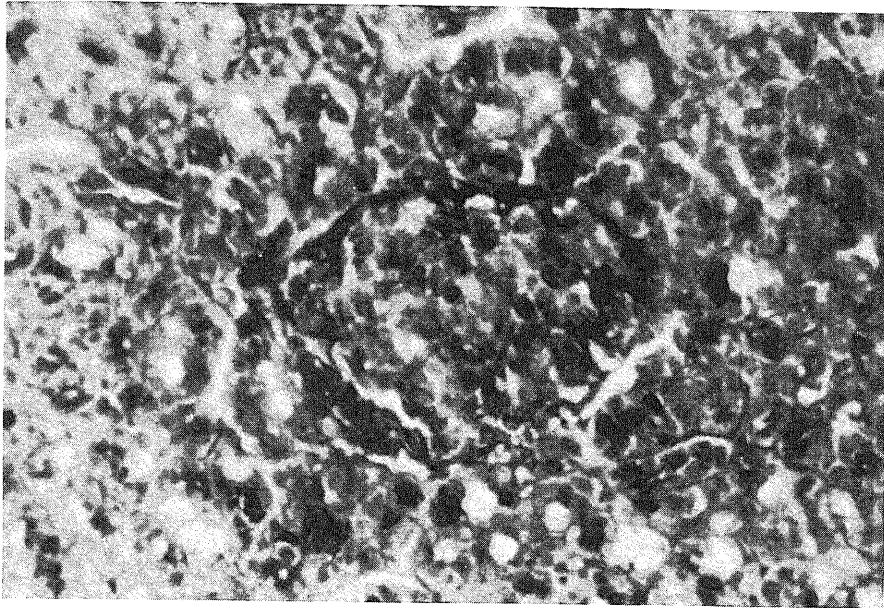


写真3 膵炎作製72時間後のラ島所見

A F 染色×200

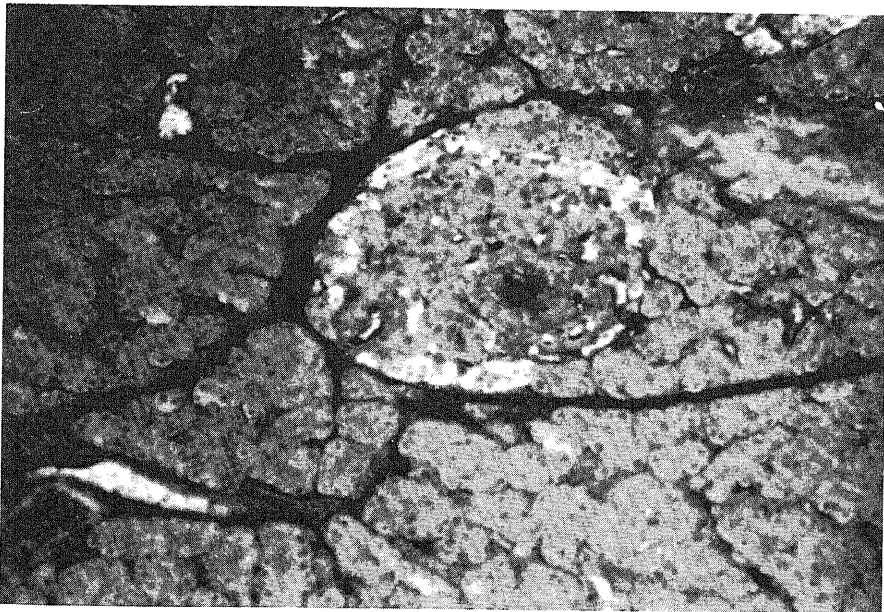


写真4 無処置ラットのグルカゴン蛍光抗体法によるラ島所見

×120

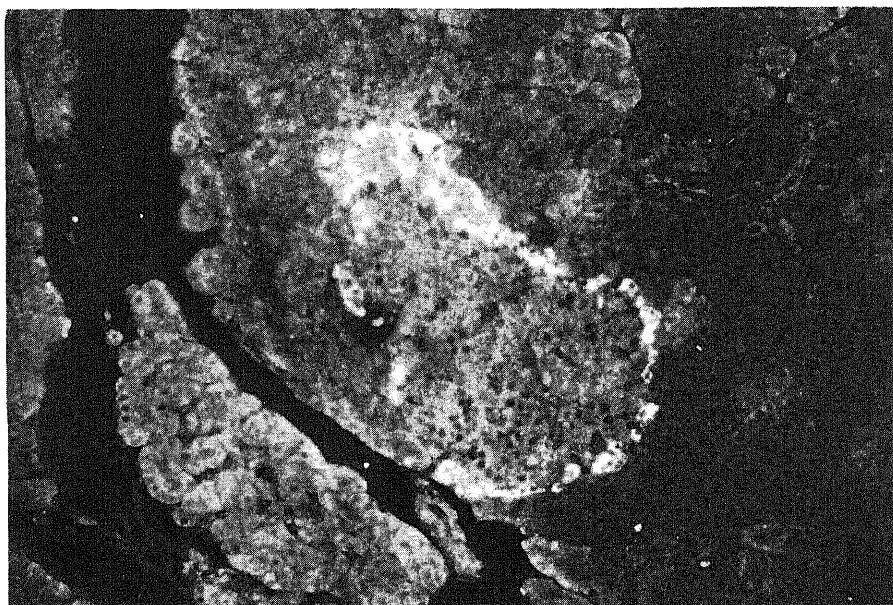


写真5 膵炎作製24時間後のグルカゴン蛍光抗体法によるラ島所見 ×120



写真6 膵炎作製72時間後のグルカゴン蛍光抗体法によるラ島所見 ×120

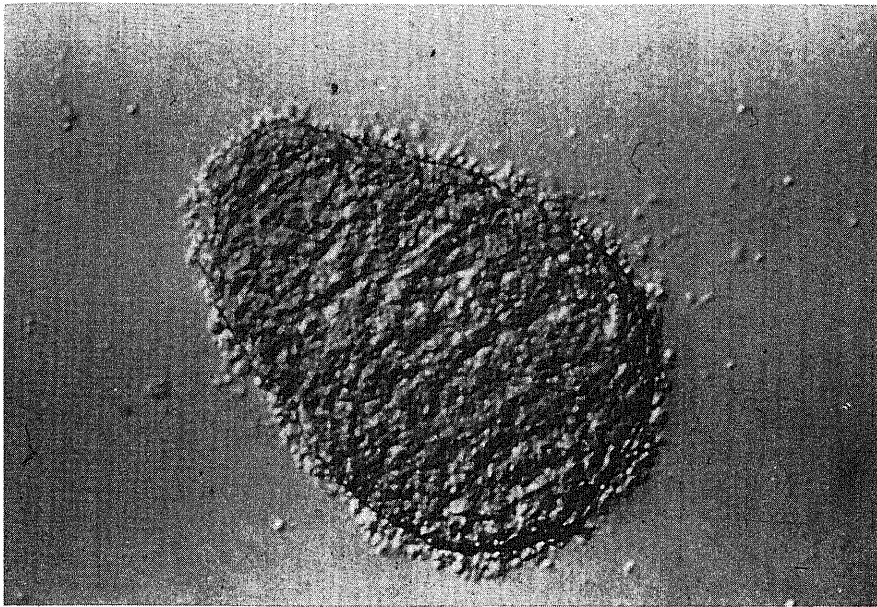


写真7 分離ラ島の形態変化微分干渉顕微鏡
正常ラットの分離ラ島

×84

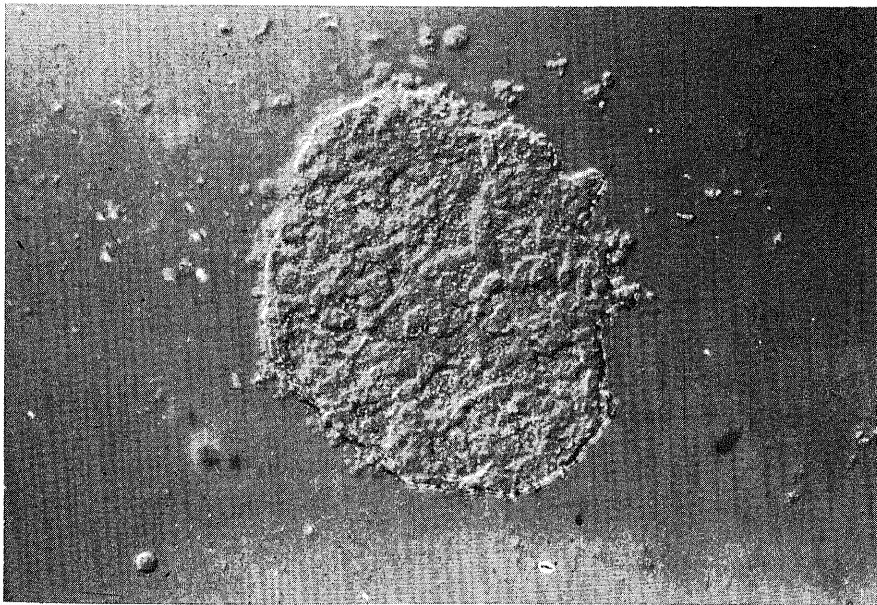


写真8 分離ラ島の形態変化微分干渉顕微鏡
急性膵炎ラットの分離ラ島

×84