

学 位 論 文 題 名

マウス閉塞腭管の再開通による腭組織の定性
ならびに定量組織学的検討

学位論文内容の要旨

I 研究目的

腭管閉塞による腭管内圧の上昇は腭炎の増悪因子のひとつである。この腭炎増悪は腭管ドレナージで軽減される。この際、障害を受けた腭組織は再生し、機能を回復するといわれているが、ヒトでは、この腭機能の回復過程に伴う腭組織の変化を経時的に追うことは困難である。動物で荒廃させた腭の再生を観察した報告は多いが、再生にともなう細胞動態、再生過程の詳細、臓器全体での細胞の数量的変化は不明である。そこで、これらの点を明かにするために、マウスの腭管を閉塞して腭組織を荒廃させたのちに閉塞を解除し、その後の腭の変化を組織学的に観察するとともに臓器全体で定量的に検討した。

II 実験材料および方法

1. 実験群

動物は成熟雌性 dd-マウス総計59匹で、次の3群とした。

1) 正常群 (例数 $n = 5$): 生後6週齢で屠殺した群。

2) 腭管閉塞群 ($n = 10$): 生後6週齢で、腭管をクリップで閉塞し、術後7日、14日で屠殺した群。手術はマウス腭臓の3分葉（胃幽門葉、十二指腸葉、脾臓葉）のうちの最も大きい脾臓葉の腭管を、実体顕微鏡下にナイロン糸で作ったクリップではさんで閉塞した。

3) 腭管閉塞解除群 ($n = 44$): 腭管をクリップで閉塞し、1週後クリップを除去した群。初回手術は上記と同様に行なった。動物は2回目の手術後、1, 2, 3, 5, 7, 14日で屠殺した。

2. 組織学的検索

摘出した腭臓をパラフィン包埋し、一定の間隔で連続切片とし、ヘマトキシリン-エオジン染色あるいは過沃素酸-シッフ (PAS) -ヘマトキシリン染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

3. 定量的検索

膵臓臓葉に算点法を用いて以下の検索を行なった。

1) 膵管実質の体積

連続切片を規則的に点を打った紙上に拡大投影し、膵実質に含まれる点を数え、膵実質の体積を総点数×1点の代表面積×切片間隔と求めた。

2) 小葉内での細胞の体積比、核密度、細胞分裂指数

連続切片を用い、光学顕微鏡下で、ランゲルハンス氏島を除き、胞体に分泌顆粒を有する上皮細胞を腺房細胞、顆粒をもたない上皮細胞を非腺房細胞、細胞間組織・血管を上皮細胞外要素として、以下の計測を行なった。各例の計測には、強拡大の標本切片の小葉に格子型接眼マイクロメーターをおき、10視野を選んで各要素に含まれる交点の数を数え、また同時に格子内に含まれる上皮細胞の核数と核分裂数を数え、次を定量した。

a) 各要素の体積比：各要素に含まれる点数の合計の比で求めた。

b) 細胞密度：単位面積（ 1 mm^2 ）あたりの核数で求めた。

c) 細胞分裂指数：上皮細胞1000個あたりの細胞分裂数として求めた。

3) 細胞の大きさ

1000倍視野において腺房細胞を100個選び、腺房腔から基底膜までの距離（細胞の高さ）と、隣接する細胞間の距離（細胞の幅）を計測した。

4) 臓器の総細胞数

単位体積あたりの細胞数は、単位面積あたりの細胞数に比例する。したがって臓器全体の細胞数は、臓器の体積×単位面積あたりの細胞数に比例する。そこで腺房細胞と非腺房細胞の相対的な総数を膵実質の体積(上記の1)と各要素の単位面積あたりの数(上記の2のb)から求めた。

III 結 果

1. 組織学的所見

1) 膵管閉塞群

膵管閉塞1週後の膵は、組織学的に小葉の萎縮が著明であった。全例で、小葉内の腺房細胞はほぼ消失し、小葉は管腔が不規則に開大する介在部導管系細胞に似た小膵管様構造(duct-like structure)で占められた。小膵管の上皮はしばしば細胞分裂像を示した。

2) 膵管閉塞解除群

クリップ除去後、64%の例で、開大していた小膵管様構造の管腔が狭くなり、小葉に再び腺房

が出現していた。腺房は、クリップ除去後2～3日から出現し、小膵管様構造と混在して標本内に一様に分布し、しばしば小膵管様構造と連続する像を示した。各腺房には小型の腺房細胞がならんで円形を呈し、ときに細胞分裂像を示した。7日目では、腺房が小葉内に密集し、小膵管様構造はほとんどみられなくなった。

2. 定量的所見

1) 膵実質の体積

膵管閉塞1週で、膵実質の体積は正常の18%まで減少した。クリップ除去後2日目から体積は増加したが、5日目から増加はゆるやかとなった。

2) 小葉内要素の定量

腺房細胞の体積比は正常膵では90%であったが、膵管閉塞1週で3%に減少し、非腺房細胞と上皮細胞外要素の比率が増加した。クリップ除去後、腺房細胞の比率は直線的に増加し、2週間で約75%となった。腺房細胞密度は膵管閉塞により小さくなり、クリップ除去後に正常とほぼ同様まで回復した。細胞分裂指数は膵管閉塞1週で高値を示し、クリップ除去後3日目まで高値のあと減少したが、14日目でも正常より多い分裂指数を示した。

3) 細胞の大きさ

閉塞解除後に出現する腺房細胞の大きさを計測すると、細胞の高さは除去後2～3日で急速に増大し、5日で正常と同様となった。細胞の幅は除去後5日まで増大したが、2週でも正常には及ばなかった。

4) 総細胞数

腺房細胞数は膵管閉塞7日で正常の2%に減少し、14日ではさらに減少した。クリップ除去後、5日目まで急速に増加し、その後増加はゆるやかとなって14日目で正常の約33%となった。一方、非腺房細胞は正常ではきわめて少ないが、膵管閉塞7日で正常の2.3倍となり14日では正常と同様まで減少した。クリップ除去後、増えていた非腺房細胞は正常まで減少した。腺房細胞と非腺房細胞の数を合計した上皮細胞数は、膵管閉塞1週で正常の3分の1に減少し、クリップ除去後もあまり増加しなかった。

IV 考 察

1週間の膵管閉塞で腺房細胞は消失し、小葉は小膵管様構造で占められた。小膵管様構造の由来は腺房細胞あるいは導管系細胞が考えられている。本研究の結果が示すように、膵管閉塞後の腺房細胞数の減少は小膵管様構造の増加を大きく上回り、腺房細胞が小膵管様構造へ移行すると

は考えにくい。また、小膵管様構造は介在部導管系細胞に形態が類似していることは、導管系細胞に由来することを示唆する。

クリップ除去後、腺房細胞の出現とともに、開大していた導管の管腔が元の状態に戻っていたことから、膵再生は膵管再開通による膵管減圧でおこると考えられる。また、腺房細胞が増加するとともに小膵管様構造が減少し、両者を合計した上皮細胞数はあまり増加しなかったことは、再生腺房細胞が小膵管様構造をつくる上皮細胞から分化することを示唆する。

腺房細胞の再生を一枚の切片でみると、膵組織は正常とほぼ同様まで回復してみえた。しかし、腺房細胞の総数を計量すると、閉塞解除後5日目から細胞数はあまり増加せず、正常膵の細胞数まで回復するに至らないことがわかった。これは腺房細胞の再生の限界を示し、臓器は完全な形態を回復するに至らないことを示す。

小膵管構造をつくる細胞は膵管閉塞14日では7日に比べさらに減少していた。このことは、膵管閉塞解除後の膵の再生は、膵管閉塞期間と関連し、閉塞期間が短く障害が軽度であれば、膵管再開通により膵は形態修復し機能回復するが、長い閉塞では上皮細胞はさらに減少し、再生は不完全となることを類推させる。

V 結 論

1) 膵管閉塞により腺房細胞は1週で退化、消失し、小膵管様構造が導管系細胞の細胞分裂で増生する。

2) 閉塞膵管が再開通すると導管系上皮細胞から腺房細胞が分化・再生する。

3) 再生した腺房細胞は数を増し、成熟して、ほぼ正常の腺房構造と小葉構造を修復する。しかし臓器全体では再生した腺房細胞の総数は正常よりはるかに少なく、臓器の形態を完全に修復するには至らない。

4) 組織および臓器全体の数量的検索を行なうことで、従来の切片上の膵再生の観察に加え、臓器全体での再生を正しく評価することが可能となる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 田 邊 達 三

副 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 劔 物 修

膵管閉塞は膵炎の増悪因子のひとつであり、また膵炎の増悪は膵管ドレナージで軽減される。この際、荒廃した膵組織は再生し、機能も回復するといわれているが、再生に伴う細胞動態、再生過程の詳細、臓器全体での細胞の数量的変化は不明である。これらの点を明らかにするために、本研究では膵管を一定期間閉塞した後再開通させて、膵の組織変化を定性的、定量的に検討した。

実験には生後6週齢の成熟マウスを用い、膵管をクリップで閉塞して、1週間後クリップを除去した。2回目の手術後、1、2、3、5、7、14日で膵臓を摘出し、連続切片を作製して光学顕微鏡で観察した。組織計量は算点法を用いて、小葉内での細胞要素の体積比、細胞密度を計量し、小葉の体積と細胞密度から総細胞数の相対値を求めた。

膵管閉塞1週間では、小葉内の腺房細胞はほとんど消失し、小葉は小膵管様構造で占められ、小膵管には多数の核分裂像をみた。この時期でクリップを除去すると、2日目には小膵管様構造と混じって腺房が再び出現し、小膵管様構造と連続する腺房細胞もみられた。腺房細胞は7日目でさらに数を増して小葉内に密集した。膵管閉塞で減少した腺房細胞の体積比は増加して、14日目には正常とほぼ同じとなった。総細胞数を求めると、膵管閉塞により増えていた小膵管様構造はクリップ除去後減少した。一方、減少していた腺房細胞の総数は再び増加したが、増加は5日目からゆるやかとなり、結局、正常の腺房細胞数に回復するには至らなかった。

以上の結果は次のことを示す。1) 閉塞膵管により腺房細胞は1週で退化、消失し、小膵管様構造が導管系細胞の細胞分裂で増生する。2) 閉塞膵管が再開通すると、小膵管様構造から腺房細胞が分化・再生する。3) 再生した腺房細胞は数を増し、成熟して、ほぼ正常の小葉構造を修復する。しかし、臓器全体では腺房細胞数は正常よりはるかに少なく、臓器の形態を完全に回復するには至らない。4) 組織および臓器全体の数量的検索を行なうことで、従来の切片上の膵再生の観察に加え、膵臓全体での再生を正しく評価することが可能となる。

口頭発表にあたって、安田教授より閉塞膵臓における炎症像、血流変化、膵管細胞の変化、間質の変化、膵臓の発生、内分泌系の変化など、また劔物教授より手術侵襲と組織所見、閉塞解除後7日目と14日目の腺房細胞の体積比の相違、長期観察における回復状況などについて質問が

あったが、申請者はおおむね妥当な回答を行なった。また安田、劔物両教授には個別に審査を受け合格と判定された。腭管閉塞後の腭の再生状況を定性的、定量的に詳細に検討した本研究は、腭炎の外科治療を行なう場合に貴重な知見を新たに加えたものであり、学位授与に値すると思う。