

学 位 論 文 題 名

マウス膵管結紮後萎縮膵における血管構築の変化

学位論文内容の要旨

目 的

様々の膵炎の中で、胆石性膵炎、膵管形成異常にともなう膵炎は、膵管の狭窄や閉塞による膵液の停滞に起因するといわれる。このことから膵管の狭窄や閉塞に伴う膵の変化が注目されるが、このような膵管閉塞時の組織変化には、臓器の形態や機能の維持にとって重要な因子である血管構築も関与している可能性が高い。そこで、本研究では膵管結紮により膵組織を荒廃させ、膵組織の変化に伴って膵血管構築がどのように変化するかを明らかにすることを目的とした。動脈側血管と静脈側血管を区別するために色素を血管内に注入後、組織化学的アルカリフォスファターゼ染色を行い、三次元的分布を観察し、膵内血管構築の変化を立体解析学的手法により定量組織学的に評価した。

材料と方法

実験動物には成熟雌性dd・マウス総計42匹を用い、正常対照群（例数=6）、膵管結紮群（例数=36）の2群に分けた。結紮群は、マウスの膵臓の分葉中最大の体積を持つ脾臓葉の膵管を結紮し、術後1、2、3、5、7、14日目に屠殺した。両群とも膵臓全体の光学顕微鏡用連続切片を作成し、組織学的検索および定量的検索を行った。組織学的検索には過ヨウ素酸・シッフ・ヘマトキシリン染色を行ったものと血管内に青インクを灌流後、アゾ色素法（ファースト赤TR）によるアルカリフォスファターゼ染色を行ったものを用いた。定量的検索は膵外分泌部体積、膵外分泌部血管の長さ密度・全長、動脈側血管と静脈側血管の長さの比率、血糖値について行った。

結 果

1) 過ヨウ素酸・シッフ・ヘマトキシリン染色標本の観察

正常では膵組織はきわめて薄層の結合組織により小葉に分けられ、小葉は主として外分泌部から成っていた。一方、内分泌部のランゲルハンス島（ラ島）は外分泌部に囲まれて散在していた。膵管を結紮すると3日では小葉は小さくなり、腺房細胞は高さを減じて小さくなった。膵管結紮後1週では、小葉はさらに小さくなり、外分泌部の体積は正常の20%となった。また、小葉は介在部導管細胞と同様の明調な細胞からなる集族、すなわち小膵管様構造で占められた。膵管結紮後2週では、小葉は1週と同様に小膵管様構造で占められ、その周辺部に小さな脂肪細胞が出現していた。膵外分泌部が大きく変化するのに対し、膵内分泌部であるラ島は膵管結紮後1～14日までの間に形態の変化を認めなかった。

2) 青インク注入アルカリフォスファターゼ染色標本の観察

動脈および動脈側毛細血管は赤染し、静脈および静脈側毛細血管は青染した。正常膵の外分泌部では動脈から分岐した赤色毛細血管は腺房を取り囲む網をつくり、途中で青色毛細血管に移行して他の青色毛細血管を集めながら静脈へ合流した。膵管結紮後3日では正常に比べ動脈側血管、静脈側血管ともやや蛇行していたが、膵管結紮後1週では小葉萎縮とともに毛細血管はさらに屈曲・蛇行して、毛細血管網の網目は小さくなった。血管の長さ密度は正常の約1.5倍となり、そのため血管の分布が密に見えた。動脈側毛細血管、静脈側毛細血管の移行と走行は、蛇行を除くと正常と同様であったが、血管の長さは正常の25%となった。膵管結紮後2週では、毛細血管は1週と同様に屈曲・蛇行し、密な分布を示した。血管の長さ密度と血管の長さは1週とほぼ同様であった。外分泌部の動脈側血管と静脈側血管の比率はほぼ同等で、膵管結紮後もこの比率はほとんど変化しなかった。

一方、内分泌部であるラ島内部の毛細血管は、一般には外分泌部と比べて細網状で、ほとんどが青色の静脈側毛細血管であった。また、ラ島は小葉内にあるものと小葉外にあるものとが区別できた。小葉内ラ島と小葉外ラ島を比較すると、小葉内ラ島は周囲と豊富な血管交通を示したが、小葉外ラ島は小葉内のものより周囲との血管交通は少なかった。膵管結紮後もラ島内の血管は変化しなかった。

血糖値は正常では200mg/dl程度であるが、膵管結紮後1日から3日まで140mg/dlまで低下した。結紮後5日では正常と同様に回復した。1週、2週後も、正常と同様であった。

考 察

毛細血管や動脈の内皮細胞はアルカリフォスファターゼ活性を示し、組織化学的に染色できることが知られている。このような血管の組織化学的な性質に着目して、血管内青インク灌流とアルカリフォスファターゼ染色により血管網を解析する独自の方法を開発した。この方法をマウス膵組織に用いたところ、動脈と動脈側毛細血管は赤くアルカリフォスファターゼ活性を示し、静脈と静脈側毛細血管はアルカリフォスファターゼ活性を示さず青く描出された。この方法により毛細血管を動脈側と静脈側に分けて解析でき、組織内の充血、うっ血、出血などの循環動態血流の方向について、詳細に検討できると考えられる。この手法を用い膵管結紮後萎縮膵における血管構築の変化について検討した。

膵管結紮後1週間の経過で腺房細胞は変性、消失し、小葉は萎縮し小膵管様の構造で占められるようになることを観察した。しかし、この膵組織の変化は、膵管結紮による膵管内圧の上昇により直接的に起きるものでなく、内圧の上昇という物理的刺激により血管が変化し、それに伴って膵組織が変化した可能性がある。膵管を結紮して膵を萎縮させると、血管は屈曲・蛇行し、さらに全長は4分の1に短縮することが明らかとなった。血管像からみると、膵内血管は次のような変化をするとみなされる。すなわち、膵管を結紮すると2週までに外分泌部の腺房細胞は変性、消失し、腺房単位で栄養していた毛細血管が不要となって、外分泌部の毛細血管は2次的に短縮していく。しかし、血管の短縮の速さは外分泌部の萎縮の速さに追いつかないため、毛細血管は屈曲・蛇行を生じ、血管の長さ密度が増加する。この血管の長さ密度の増加と壊死巣を認めないことは、膵の血流が十分に保たれていることを示唆する。少なくとも膵組織が虚血状態になっているとはいえない。したがって、外分泌部の荒廃は血管因子を介在したものではなく、膵管の閉塞という因子で生じていると結論できる。

一方、内分泌部の血管構築については、外分泌部の血管が屈曲、蛇行、短縮という大きな変化を示すのに対し、ラ島の血管構築は変化せず、血管構築の上からもラ島の形態が正常のまま保たれていることを確認した。この理由は、小葉外ラ島では外分泌部から独立した循環系があり、小葉内ラ島では血液の流れからいって外分泌部より上流に位置するためと考える。また、血糖値をみても、術後早期に手術侵襲性の摂食低下による低血糖を示したが、膵管結紮後2週では血糖値は正常とほぼ同様であり、ラ島は形態が正常であるだけでなく機能も正常に維持されていることを示唆する。

結 語

1. 青インク灌流・アルカリフォスファターゼ染色により動脈側血管を赤，静脈側血管を青に染め分けることができた。
2. 膵管の閉塞後外分泌部の萎縮にともない，二次的に動脈側，静脈側の血管は短縮，屈曲を生じた。
3. 内分泌部は腺房細胞が変化してもなんら影響を受けず，その形態，機能が正常のまま保たれた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 紘 之

副 査 教 授 浅 香 正 博

副 査 教 授 阿 部 和 厚

学 位 論 文 題 名

マウス膵管結紮後萎縮膵における血管構築の変化

様々の膵炎の中で、胆石性膵炎、膵管形成異常にともなう膵炎は、膵管の狭窄や閉塞による膵液の停滞に起因するといわれる。このことから膵管の狭窄や閉塞に伴う膵の変化が注目されるが、このような膵管閉塞時の組織変化には、臓器の形態や機能の維持にとって重要な因子である血管構築も関与している可能性が高い。そこで、本研究では膵管結紮により膵組織を荒廃させ、膵組織の変化に伴って膵血管構築がどのように変化するかを明らかにすることを目的とした。

実験動物には成熟雌性dd-マウス総計42匹を用い、正常対照群（例数=6）、膵管結紮群（例数=36）の2群に分けた。結紮群は、マウスの膵臓の脾臓葉の膵管を結紮し、術後1, 2, 3, 5, 7, 14日目に屠殺した。両群とも膵臓全体の光学顕微鏡用連続切片を作成し、組織学的検索および定量的検索を行った。組織学的検索には過ヨウ素酸-シッフ-ヘマトキシリン染色を行ったものと血管内に青インクを灌流後、アゾ色素法（ファースト赤TR）によるアルカリフォスファターゼ染色を行ったものを用いた。定量的検索は膵外分泌部体積、膵外分泌部血管の長さ密度・全長、動脈側血管と静脈側血管の長さの比率、血糖値について行った。

その結果、過ヨウ素酸-シッフ-ヘマトキシリン染色標本の観察では、膵管結紮後3日で小葉は小さくなり、腺房細胞は高さを減じて小さくなった。膵管結紮後1, 2週では、小葉はさらに小さくなり、外分泌部の体積は正常の20%となった。また、小葉は介在部導管細胞と同様の明調な細胞からなる集簇、すなわち小膵管様構造で占められた。膵外分泌部が大きく変化するのに対し、膵内分泌部であるラ島は膵管結紮後1～14日までの間に形態の変化を認めなかった。

一方、青インク注入アルカリフォスファターゼ染色標本の観察では動脈および動脈側毛細血管は赤染し、静脈および静脈側毛細血管は青染した。正常膵の外分泌部では赤色毛細血管と青色毛細血管は腺房を取り囲み網をつくっていた。膵管結紮後3日では正常に比べ動脈側血管、静脈側血管ともやや蛇行していたが、膵管結紮後1, 2週では小葉の萎縮とともに毛細血管はさらに屈曲・蛇行して、毛細血管網の網目は小さくなった。血管の長さ密度は正常の約1.5倍となり、血管の長さは正常の25%となった。外分泌部の動脈側血管と静脈側血管の比率はほぼ同等で、膵管結紮後も変化しなかった。

内分泌部であるラ島内部の毛細血管は、一般には外分泌部と比べて細網状で、ほとんどが青色の静脈側毛細血管であった。また、ラ島は小葉内にあるものと小葉外にあるものとが区別できた。小葉内ラ島は周囲と豊富な血管交通を示したが、小葉外ラ島は小葉内のものより周囲との血管交通は少なかった。膵管結紮後もラ島内の血管は変化しなかった。血糖値は膵管結紮後1日から3日まで低下したが、結紮後5日では正常と同様に回復した。1週, 2週後も正常と同様であった。

以上の結果から膵管を結紮して膵を萎縮させると、膵内血管は次のような変化をすることと思われる。

外分泌部では、膵管を結紮すると2週までに腺房細胞は変性、消失し、腺房単位で栄養していた毛細血管が不要となって、外分泌部の毛細血管は2次的に短縮していく。しかし、血管の短縮の速さは外分泌部の萎縮の速さに追いつかないため、毛細血管は屈曲・蛇行を生じ、血管の長さ密度が増加する。

一方、内分泌部では、小葉外ラ島では外分泌部から独立した循環系があり、小葉内ラ島では血液の流れからいって外分泌部より上流に位置するため、血管構築は変化しないと考えられる。また、血糖値も、膵管結紮後2週では正常とほぼ同様であり、ラ島は形態が正常であるだけでなく機能も正常に維持されていることを示唆する。

公開発表において、浅香正博教授より、青インク灌流-アルカリフォスファターゼ染色の手法、染色されるアルカリフォスファターゼの存在部位とそのアイソザイム、膵管結紮後の組織変化の機序、ランゲルハンス島内の血管の生理学的機能について質問があった。次いで阿部和厚教授より外分泌部の血管が短縮する機序、内分泌部と外分泌部の血管構築上の関係、血糖値の変化、本手法の腫瘍新生血管への応用について質問があった。また、会場よりアルカリフォスファターゼ活性を保つ手技的工夫について質問があった。最後に加藤紘之教授より病的臓器に対する本手法の応用について質問があった。申請者は、いずれの質問に対しても、おおむね妥当な回答をした。

膵管結紮後萎縮膵における血管構築の変化を詳細に検討した本研究の意義は大きく、審査員協議の結果、本論文は、博士（医学）の学位授与に値するものと判定した。