

## 遊離部分膵に対する体外分割照射に関する実験的研究

北海道大学医学部第2外科教室 (指導: 田辺達三教授)

下 沢 英 二

### AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF DEVIDED IRRADIATION ON FUNCTION OF ISOLATED AND PARTIALIZED PANCREAS

Eiji SHIMOZAWA

The Second Department of Surgery Hokkaido University, School of Medicine

膵部分切除後の残存膵に対する体外分割照射が内分泌機能に与える影響を知る目的で、雑種成犬を用いて60%膵切除を行い、術後3週間を経た時点で臨床効果30GY および60GY 相当の体外分割照射を行って切除単独群と比較検討した。3カ月時の耐糖能は血糖消失率 K 値で切除単独群 $1.32 \pm 0.33$ , 30GY 群 $1.07 \pm 0.58$ , 60GY 群 $1.03 \pm 0.55$ といずれも境界型を示した。しかし照射の有無および量による影響はなかった。電顕像の計量組織学的検索では実験群で Insulin 顆粒の増加と同顆粒の Volume Density の増加 (正常対照10.6, 切除単独群14.1, 30GY 群26.9, 60GY 群22.4) がみられた。60%膵切除・照射後3カ月時にみる限り、照射による内分泌機能への影響は認められなかった。耐糖能保持の因子としてラ島機能の亢進が考えられた。

索引用語: 膵切除, 膵照射, ラ島機能, 膵内分泌機能, 計量組織学

#### 結 言

膵癌は腹腔内の諸臓器癌の中でもとりわけ治療成績が不良であり、さまざまな治療対策がなされている。放射線治療は早くより試みられているが、多くは切除不能膵癌に対するものである<sup>1)</sup>。最近、膵切除後の集学的治療として照射が用いられてきているが<sup>2)</sup>、照射後の膵内分泌機能についての基礎的な報告は少ない。特に切除・照射後の耐糖能について、血糖や Insulin 分泌を定量的に評価した報告はない。

術後照射が残存膵の耐糖能におよぼす影響を正確に評価しておくことは、膵切除量や照射量を考える上できわめて重要である。そのため本研究では雑種成犬を用いて、膵切除後に体外分割照射を行い、膵内分泌機能を検索した。

#### I. 実験材料ならびに方法

##### 1) 手術方法

雑種成犬(8~12Kg)を用い、イソゾール静脈麻酔・気管内挿管調節呼吸下に、60%(50%~65%, 平均57%, 目測重量比)の膵切除を行い、残存膵を十二指腸と

もに挙上し、前腹壁内正中部に作成したポケットに固定した。主膵管は結紮切離し、副膵管にはチューブを挿入し断端を腹腔内開放とした。照射の目標としてポケットの底部にヒューズを固定した(図1)。

##### 2) 照射方法

手術時に挿入したヒューズをTV透視下に確かめ、皮膚に照射野を記した。イソゾール静脈麻酔下に実験犬を照射台上に横臥させ、liniac 対向2門体外分割照射を行った。Orton<sup>3)</sup>の Time, Dose, and Fractionation (以下 TDF) で換算し、6.0GY×4回/12日 (TDF=62, 臨床効果30GY 相当), または9.0GY×4回/12日 (TDF=116, 臨床効果60GY 相当)の照射を行った(図1)。

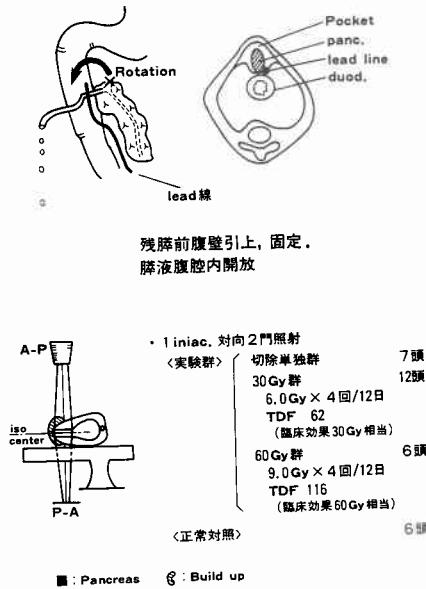
##### 3) 実験群の構成

手術後3週時の耐糖能検査で手術に基づく異常のないものを無作意に群分けした。処置しない正常全膵犬を正常対照とし、実験群は膵切除のみ行った切除単独群、膵切除後臨床効果30GY 相当を照射した30GY 群、膵切除後臨床効果60GY 相当を照射した60GY 群の3群とした。

##### 4) 内分泌学的検索

経静脈的ブドウ糖負荷試験(以下 IV. GTT)を行い、

図1 手術方法と照射方法



内分泌機能の指標とした。24時間の絶食の後、イソゾール静脈麻酔下に、前肢静脈より50%グルコース（ブドウ糖0.5g/Kg）を1分間かけて投与した。対側前肢静脈より投与前、投与後2分・5分・10分・30分・60分に採血し、血糖値およびinsulin（以下IRI）値を測定した。血糖値はglucose oxydase法、IRIは2抗体法によった。検索は正常対照犬とともに、実験群では手術後3週（照射前値）と、手術または照射後3カ月時に施行した。内分泌機能判定の指標として、以下の各項目について検討した。

- イ) : 血糖曲線, IRI 曲線
- ロ) : Insulinogenic Index (以下 I. I.)

ブドウ糖負荷後2分の、前値に対するIRIの増加量を、同様2分後の糖の増加量で除し、β細胞機能を推測した<sup>4)</sup>。

- ハ) : 糖消失率 (K 値)

血糖値を半対数グラフにプロットし、血糖下降速度を求め、半減期 (t1/2) を算出し  $K = (0.693/t1/2) \times 100$  で表示した<sup>5)</sup>。

- ニ) : IRI Peak 値, Peak Insulin Time

B細胞の反応力と反応性を知るためそれぞれを求めた<sup>6)</sup>。

- ホ) : IRI 分泌量と Total Insulinogenic Index (以下 T. I. I.)

残存膵のB細胞機能の量的指標としてIRIの総分泌

量 ( $\Sigma IRI (0' \sim 60')$ ) と、増加量 ( $\Sigma \Delta IRI (0' \sim 60')$ ) を求めた。さらにそのIRIによる糖処理能力を知るため60分間のIRI増加量を60分間の糖増加量で除した値  $T. I. I. (\mu u. dl/ml. mg) = \Sigma \Delta IRI (0' \sim 10') / \Sigma \Delta BS (0' \sim 60')$  を求めた<sup>7)</sup>。

### 5) 組織学的検索

手術・照射後3カ月時にIV.GTTの直後に屠殺し、膵組織を採取し組織学的検索を行った。

膵組織の長軸に直角な輪切り切片を、1組織より6検体作成し、それぞれ2検体ずつ、10%緩衝ホルマリン液(LM用), Bouin液(免疫組織用), 緩衝4%glutal aldehyde(EM用)にて固定した。それぞれからHE染色, PAP法抗ヒトインスリン抗体染色(DAKO社, PAPKIT K512) (以下PAP法<sup>8)</sup>)、および電顕組織標本を作成し、膵組織内ラ島細胞, β細胞, さらにinsulin顆粒(以下I顆粒)の動態を観察した。

HE染色標本を用いて、1個体2検体ずつ、1標本中100個のラ島を無作為に抽出し、ラ島を構成する総細胞数を算出した。

PAP法染色からも、同様にラ島を構成するβ細胞数を算出した。

電顕標本は倍率5000で観察し、1検体から30~50枚のβ細胞のキャビネ版プリントを作成した。Weibelの計量組織学的方法<sup>9)</sup>に準じて、Degiplan-200を用い、1個体50~80個のβ細胞を計測し、β細胞の大きさ、I顆粒の数と大きさ、I顆粒がラ島に占める面積の割合を算出し、I顆粒のVolume densityを求め、各群間の比率で表示した。

最後に各標本の形態学的観察を行った。

## II. 結 果

### 1. 膵内分泌機能の評価

#### 1) 術後3週時の耐糖能の検討

各イヌについて術後3週時にIV.GTTを施行し、膵切除が耐糖能におよぼす影響をみた(図2)。膵切除群および照射群の25頭では血糖の30分, 60分値が高く、60%膵切除で軽度の耐糖能低下がみられた。IRIは初期10分までが正常対照に比べ低値を示し、Peak値も低かった。これらは無作為に3群に分け以後の実験に供した。実験群3群間には、血糖・IRI値に全く差はなかった。

#### 2) 耐糖能の経時推移の検討

膵切除または照射が耐糖能に経時的におよぼす影響を検討した。

切除単独群(図3・左)では、血糖の2分値が3かカ

月時でむしろ低いが、以後60分まで差はなく3週時と同等であった。IRI反応は3カ月時には低値の傾向であった。

30GY群(図3・中)では、3カ月時の血糖が5分、10分で低値を示したが、血糖曲線はむしろ平坦であった。IRI反応は3週時より低値であった。

60GY群(図3・右)では、3カ月時の血糖に有意差はないが、60分での血糖下降の遅れがうかがわれた。IRI反応は3週時と同等で低値を示した。

小括：膵切除および残存膵照射が耐糖能に経時的に

与える影響は3カ月時までみられなかった。

3) 3カ月時耐糖能の検討

3カ月時の血糖曲線、IRI反応を比較し、照射の有無および照射量が耐糖能におよぼす影響を検討した(図4・表1)。

正常対照との比較では、初期相(2-10分)の血糖値で有意の高値を示すものはなかった。後期相(30-60分)では実験群がいずれも高値を示し糖消失の遅れを認めた。IRI反応は実験群すべてが正常対照に比べ低反応であった。

3カ月時実験群間の血糖曲線に差を認めなかった。

IRI反応は実験群間で有意差を認めたものもあるが一定の傾向はなく、ほぼ近似して低値であった。

小括：残存膵耐糖能は膵切除により後期相での低下を認めたが、照射の有無あるいは量による影響はなかった。IRI反応は正常対照に比べ低値であり、前値と後期相に有意差があったが、照射による一定の傾向はなかった。

4) I. I からみた耐糖能の検討

3週時では、正常対照 $0.18 \pm 0.12$  ( $\mu\text{u. dl/ml. mg}$ ) に比べ切除単独群 $0.08 \pm 0.08$  (N.S), 30GY群 $0.05 \pm 0.04$  ( $P < 0.05$ ), 60GY群 $0.06 \pm 0.06$  ( $P < 0.1$ ) と全体に低下を示し、有意差がみられた(図5)。

3カ月時では、切除単独群 $0.06 \pm 0.04$ , 30GY群 $0.04 \pm 0.02$ , 60GY群 $0.06 \pm 0.01$ であり、3週時より経時的にやや低下を示したが有意ではなかった。また実験群間に有意差はなかった。

小括：I. I にみる耐糖能は60%膵切除により3週時に低下した。3カ月時には3週時と有意差はなく、実

図2 3週時(照射前)の耐糖能

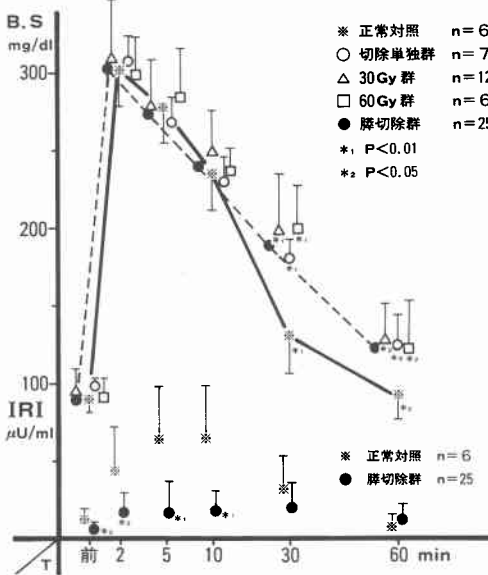


図3 耐糖能の経時推移

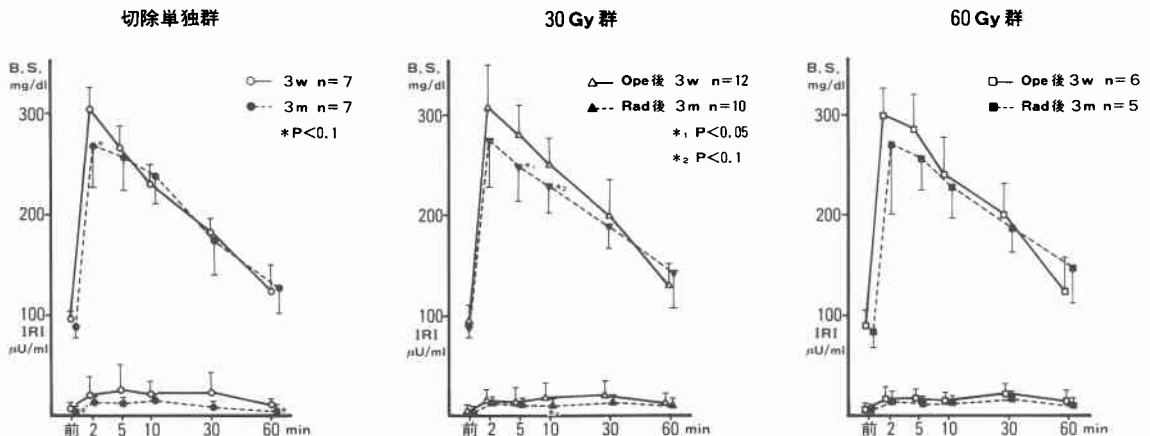


図4 3カ月時耐糖能

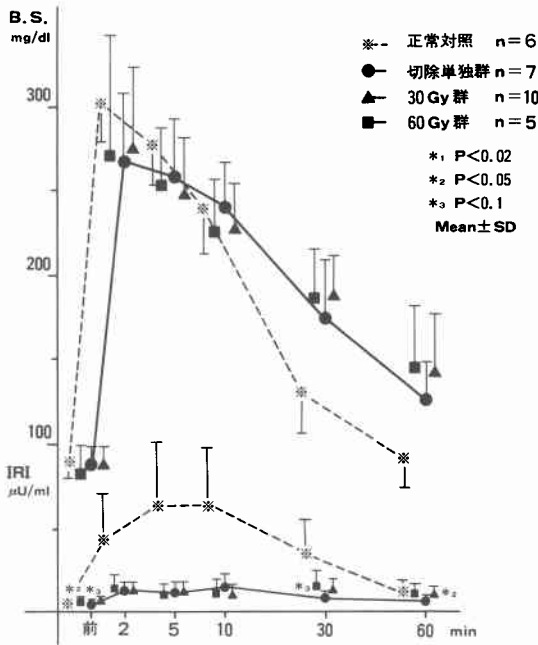


表1 3カ月時IV・GTTの血糖値, IRI値

群	項目	前	2分	5分	10分	30分	60分
		BS	BS	BS	BS	BS	BS
正常対照 n=6	BS	89.0±7.8	301.7±22.5	277.3±22.8	235.5±23.6	130.3±24.1	91.3±14.1
	IRI	13.2±6.4	42.8±28.1	63.0±36.3	63.8±35.1	33.0±21.4	10.7±2.8
切除単独群 n=7	BS	88.0±10.2	267.3±41.2	258.1±35.4	239.1±28.9	174.7±34.5	126.5±23.0
	IRI	4.3±2.7	13.2±5.1	13.3±5.3	14.8±8.1	9.3±3.3	6.8±3.1
30 Gy 群 n=10	BS	88.4±9.5	274.1±47.7	246.4±33.7	227.7±25.8	188.3±22.6	142.2±35.3
	IRI	6.2±1.7	13.4±4.3	12.8±4.2	11.4±4.3	13.2±7.3	11.8±4.7
60 Gy 群 n=5	BS	83.0±14.1	271.0±64.4	254.4±28.4	226.0±27.5	187.6±25.7	146.2±32.6
	IRI	7.4±1.9	14.4±8.2	11.8±5.8	12.2±7.2	16.4±7.7	11.8±5.6

Mean±S.D		BS=mg/dl		IRI=μU/ml	
正常対照	89.0±7.8	301.7±22.5	277.3±22.8	235.5±23.6	130.3±24.1
切除単独群	88.0±10.2	267.3±41.2	258.1±35.4	239.1±28.9	174.7±34.5
30 Gy 群	88.4±9.5	274.1±47.7	246.4±33.7	227.7±25.8	188.3±22.6
60 Gy 群	83.0±14.1	271.0±64.4	254.4±28.4	226.0±27.5	187.6±25.7

比較	検定
P<0.01	①
P<0.05	②
P<0.1	③

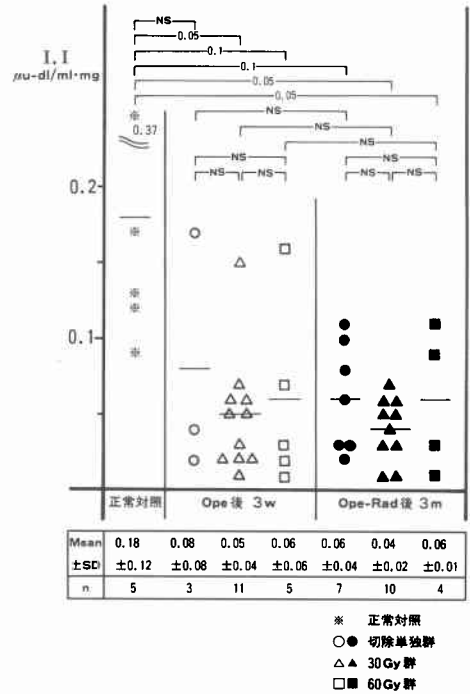
験群間でも差はなかった。照射の有無や量による影響は認めなかった。

5) 血糖消失率 K 値からみた耐糖能の検討

正常対照 $2.11 \pm 0.24$ に対し、3週間時で切除単独群 $1.44 \pm 0.31$ ( $p < 0.05$ ), 30GY 群 $1.46 \pm 0.32$ ( $p < 0.01$ ), 60GY 群 $1.5 \pm 0.54$ ( $p < 0.02$ )といずれも低下し、正常下限あるいは境界型を示した。実験群間に差はなかった(図6)。

3カ月時では切除単独群 $1.32 \pm 0.33$ (N.S.), 30GY 群 $1.07 \pm 0.58$ ( $p < 0.1$ ), 60GY 群 $1.03 \pm 0.55$ (N.S.)

図5 Insulinogenic Index ( $\Delta IRI/\Delta BS$  2min)



と3週時に比べ経時的に低下傾向があるが、有意の差はなかった。また、実験群間では照射群に低い傾向があるが有意ではなく、照射量による差はなかった。

小括: 糖消失率 K 値の観点からは、経時的あるいは照射で K 値の低下傾向がみられたが、有意の変化は認めなかった。

6) IRI Peak 値と Peak Insulin Time の検討

IRI Peak 値は正常対照 $70.8 \pm 16.2 \mu U/ml$ に対し、3週時は切除単独 $30.3 \pm 13.7$ , 30GY 群 $27.6 \pm 4.9$ , 60GY 群 $27.0 \pm 5.8$ と60%膵切除により有意の低下( $p < 0.01$ )を示した(図7)。実験群間に差はない。

3カ月時の Peak 値は切除単独群 $21.9 \pm 6.4$ , 30GY 群 $16.6 \pm 2.0$ , 60GY 群 $17.4 \pm 4.1$ と3週時に比べ全体に低下傾向にあったが、有意であったのは30GY 群( $P < 0.05$ )のみであった。

Peak insulin time は正常対照が $10.8 \pm 4.0$ 分であるのに対し、3週時で切除単独群 $18.8 \pm 6.6$ , 30GY 群 $22.2 \pm 5.2$ , 60GY 群 $21.5 \pm 9.4$ と膵切除により、β細胞の反応性の遅れが認められた。

3カ月時では切除単独群 $10.3 \pm 3.6$ , 30GY 群 $11.0 \pm 4.2$ と回復傾向がみられたが、60GY 群では $24.8 \pm 10.8$ と遅延したまま( $p < 0.01$ )であった。

図6 血糖消失率・K 値

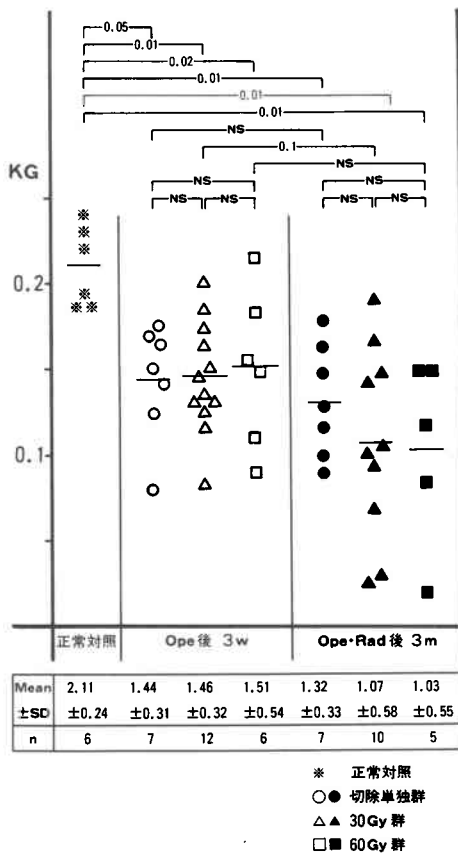
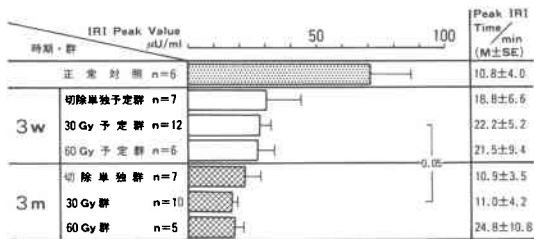


図7 IRI Peak 値, Peak Insulin Time



小括；脾切除により低下した IRI peak 値は3カ月時も同等であった。Peak insulin time は60GY 群では3カ月時にも回復を認めなかった。

7) Insulin 分泌量と T. I. I. の検討

IRI 総分泌量は正常対照2155±511.9µu. min/ml に対し、3週時は切除単独群1209.5±483.4、30GY 群1025.1±147.6、60GY 群1043.5±212.2と低下 (p<0.01) した (図8)。

IRI 増加量も正常対照1379.3±382.1に対し、3週時

図8 Insulin 分泌量と T. I. I.

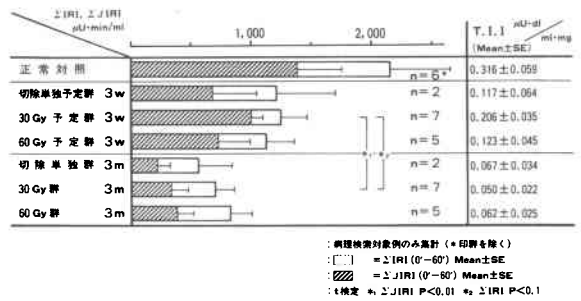
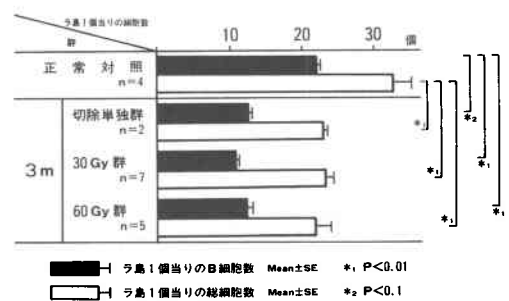


図9 ラ島内細胞構成



は切除単独群665.0±390.5、30GY 群699.6±217.7、60GY 群610.8±249.2と低下 (p<0.01) した。

T. I. I. でも正常対照0.32±0.06µu. dl/ml. mg に対し、3週時は切除単独群0.12±0.06、30GY 群0.21±0.04、60GY 群0.12±0.05と耐糖能の低下 (p<0.01) が認められた。

3カ月時の検索では IRI 総分泌量は切除単独群 892.3±295.6、30GY 群740.6±104.3、60GY 群 830.4±181.7であり、3週時と比べ低下傾向にあるが有意差はなく、実験群間にも差はなかった。

IRI 増加量では3カ月時は切除単独603.9±244.0、30GY 群371.5±101.1、60GY 群389.4±141.5であり、3週時と比べ30GY 群で低下 (p<0.1) が認められた。実験群間に有意差はなかった。

T. I. I. は3カ月時切除単独群0.07±0.03、30GY 群 0.06±0.02、60GY 群0.06±0.03で、3週時と比べ低下傾向はあるが有意差はなく、実験群間にも有意差はなかった。

小括；IRI の分泌反応は60%脾切除により低下し、30GY 群に分泌量の経時的な低下を認めた。しかし3カ月時の実験群間では、照射の有無や量による違いを認めなかった。

2. 計量組織学的検索によるラ島β細胞機能の評価

1) ラ島内細胞構成の検討

正常対照で32.8±3.8個あったラ島内総細胞数は、切除単独群23.1±5.4(p<0.01), 30GY群23.3±3.1(p<0.05), 60GY群22.1±4.4(p<0.01)といずれも減少した(図9)。実験群間に有意差はなく、照射の有無や量による影響は認めなかった。

正常対照で22.1±1.5個あったラ島内β細胞数は、切除単独群12.5±1.6, 30GY群10.8±1.5, 60GY群12.3±2.1と実験群で減少(p<0.01)した。実験群間には有意差はなく、照射の有無や量による影響は認めなかった。

総細胞数に占めるβ細胞の割合は正常対照, 67.4%であるのに対し、切除単独群54.3%, 30GY群46.2%, 60GY群55.6%であり、実験群で低い傾向にあった。照射による一定の傾向はなかった。

小括：腺切除によってラ島内総細胞数, β細胞数の減少がみられたが、照射による影響はみられなかった。

2) 電顕観察に基づくβ細胞機能の検討

観察が可能であった電顕標本について各群2検体より、それぞれ50~80個のラ島を観察し計量組織学検討を行った(表2)。

β細胞の大きさは正常対照5075に対し、切除単独群は6422と大きく、30GY群3566, 60GY群4182と照射群では小さい傾向にあった。

I顆粒の大きさは正常対照11.3に対し、切除単独群

17.3, 30GY群19.8, 60GY群15.1と実験群で大きかった。照射の有無や量による一定の傾向はなかった。

β細胞1個当りのI顆粒の個数は正常対照47.5に対し、切除単独群52.4, 30GY群48.3, 60GY群62.1と、同等か増加の傾向にあった。

β細胞単位面積当りのI顆粒の個数は正常対照9.4に対し、切除単独群8.2, 30GY群13.5, 60GY群14.9と、照射群で増加していた。

各β細胞でのI顆粒の動向の指標として、β細胞中にI顆粒が占める割合 volume density (以下 V. D) を求めたところ正常対照10.6に対し、切除単独群14.1, 30GY群26.9, 60GY群22.4と実験群で増加の傾向にあった。

小括：電顕像の計量組織学的検討から、I顆粒の増加とV. Dの増加がみられ、実験群ラ島内β細胞でのI顆粒産生亢進が示唆された。

表2 電顕像の計量組織学的検討

	B-cellの大きさ	Insulin顆粒の大きさ	B-cell当りのI顆粒の個数	B-cell単位面積(1000)当りのI顆粒の個数	I顆粒のVolume Density
正常対照	5075	11.3	47.5	9.4	10.6
切除単独 3m	6422	17.3	52.4	8.2	14.1
30 Gy 3m	3566	19.8	48.3	13.5	26.9
60 Gy 3m	4182	15.1	62.1	14.9	22.4

各群より検索の行えた2検体につき検計  
各群に付 50~80個のラ島について測定  
測定は Didiplan-200 を使用  
数字は各群間の比率を示す

図10 H-E染色像

切除単独群 軽度線維化あり  
30Gy群 線維化やや強い  
60Gy群 間質の線維化あるが 腺房構造は保たれている

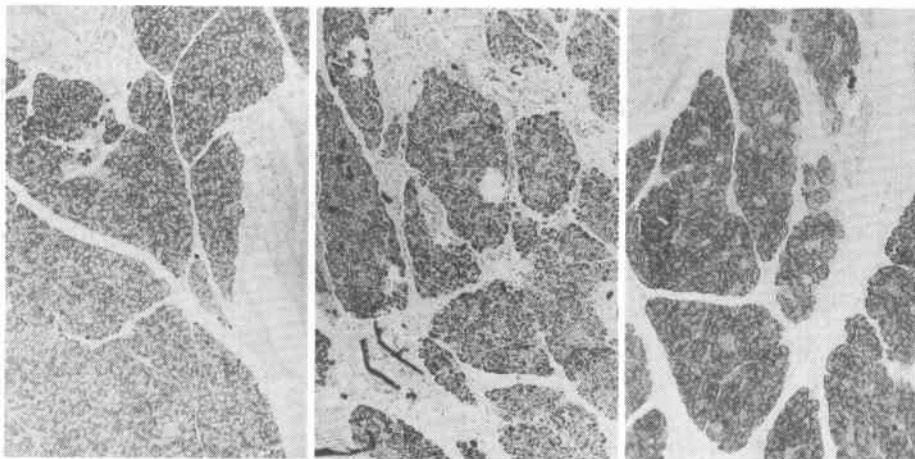


図11 ラ島 B 細胞像 (インスリン抗体による PAP 法)

切除単独群

30Gy 群

60Gy 群

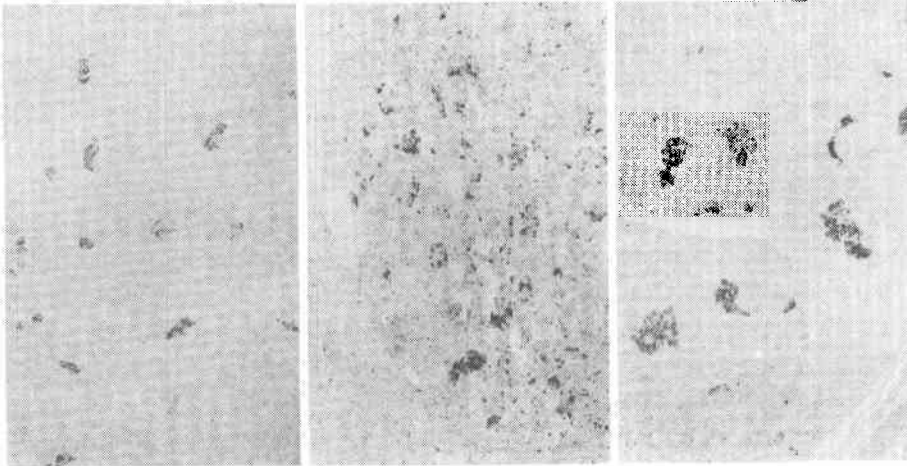


図12 電顕組織像 (×5000)

切除単独群

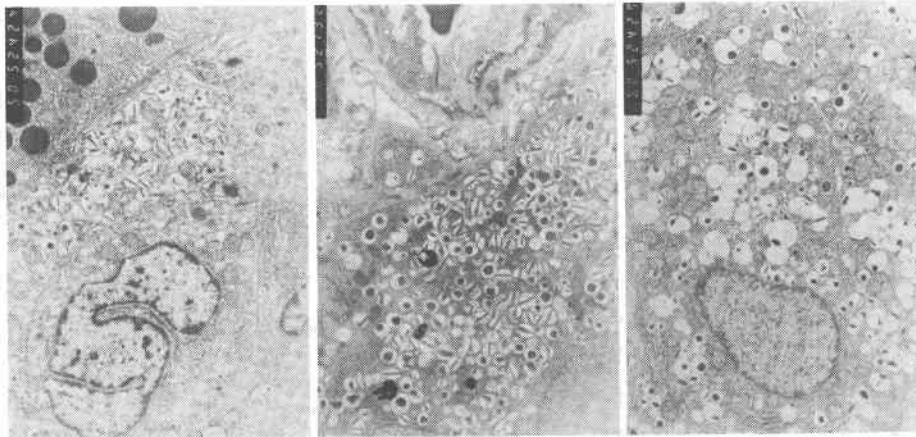
30Gy 群

60Gy 群

ラ氏島細胞と外分泌細胞は比較的厚い基底膜により境され、B-cell はやや数を減じ不完全な D 細胞顆粒を有する細胞やいずれの細胞とも判別不能な細胞もしばしばみられる。

B-cell 内の Insulin 顆粒の数は増加している印象を与える。B-cell の外周はしばしば比較的厚い基底膜によりおおわれ血管周囲には厚い膠原線維がとりまいている。

B-cell 内のインスリン顆粒はしばしば腫大し、時として内腔に構造物を認めないこともある。ゴルジ装置の発達はよい。



### 3. 形態組織学的観察

#### 1) HE 染色光顕像の検討

切除単独群では膵管周囲の線維化があるが、実質細胞の変化はなかった。30GY 群は小葉間の線維化が進んでいるが、やはり実質細胞の変化はなかった。60GY 群は小葉間の線維化が進むが、小葉構造は保たれてい

た(図10)。

#### 2) PAP 法光顕像の検討

切除単独群では均等なラ島が散在していた。30GY 群はラ島の大小不同があり、一部密集していた。60GY 群でもラ島の大小不同があるが、ラ島形態は保たれていた。いずれも染色性は良好だった(図11)。

## 3) 電顕像×5,000の検討

切除単独群では正常と比べI顆粒の増加をみた。β細胞は比較的厚い基底膜に覆われていた。30GY群はI顆粒の変形がみられ、数はやや減じ、基底膜も厚い。60GY群はI顆粒の肥大・空胞化を認め基底膜はやや厚いが、ゴルジ装置の発達はよかった(図12)。

## III. 考 察

膵に対する放射線照射の影響に関しては、1920年代からイヌを用いた幾つかの実験報告<sup>10)~14)</sup>があり、膵の線維化、ラ島細胞の変化、外分泌機能の推移について報告されている。内分泌機能に関しては尿糖、血糖、近年ではIV. GTTを用いて検討され・照射後も膵内分泌機能は温存されるとするものがほとんどである。しかし、IRI分泌を加味した定量的な解析の報告はみられなかった。そこで著者は本実験で、臨床をふまえた体外分割照射として腺癌の治癒線量45~50GYを基準<sup>15)</sup>に、臨床効果30GY相当および60GY相当を照射し、内分泌機能の定量的解析とラ島機能の検討を試みた。

3カ月時の耐糖能では、血糖曲線は正常対照に比べ後期での軽度上昇をみた。諸家の報告の中でFisher<sup>10)</sup>は、4~5 human erythema doses (以下E. D.)の一回照射で膵構造が失われたと述べている。4~5 E. D.は18~22.5GY相当であり、著者の60GY群は36GYが実地照射量である。照射の効果は照射量や照射方法で異なる<sup>3)</sup>。Archangeau<sup>12)</sup>、Pieroni<sup>16)</sup>は体外分割照射を行い、膵線維化は認めたがラ島やβ細胞は温存され、血糖値は正常であったと述べている。一方、Volk<sup>13)</sup>、Wellmann<sup>14)</sup>による照射後の膵の経時的な電顕観察では、1回大量照射(50~90GY)で組織変化は2時間後から始まり、4日目から3週にかけI顆粒の変性が進み、その異常は3~4カ月続くが8~9カ月で正常化するとしている。分割照射は1回照射量が少ないことで影響が小さくなると推測されるが、照射の影響をみる上ではさらに長期の観察も必要である。

耐糖能を定量的に評価するために行ったK値の検討では、膵切除により3週時で1.5前後に低下し、3カ月時は有意差はないが1.2前後の境界型となった。耐糖能を血糖とIRIの相関で定量的に求めたI. I. では3週時から低値を示した。この値はヒトの臨床成績で糖尿病レベルとなり、血糖曲線やK値と合致しない。これら耐糖能の指標の成績を検討する上で、IRI分泌やβ細胞機能の動態を明らかにする必要がある。

3カ月時でのIRI反応は、実験各群ともに著明に低

下しており、特に10分までの初期反応で顕著である。五島<sup>17)</sup>はSandmeyer型糖尿病発生に関するイヌの膵切除量の実験で、70~88%膵切除後3~10週の非糖尿病期のIV. GTTで同様所見を報告している。五島はこの正常反応の第1相(=Grotsky<sup>18)</sup>のstored insulin)の欠如は、膵切除によりもたらされ、引きつづき分泌されるIRIにより耐糖能が維持されるとしている。著者の実験成績も五島の反応とよく一致しており、IRI反応の低下は照射による差がないことから膵切除によると考えられる。

このIRI反応の特徴を検討したところ、IRIのPeak値は3カ月時にも低下していたが、peak insulin timeは、3カ月時は切除単独群、30GY群で回復していた。もちろん反応時間のみでは、ラ島が照射の影響から回復したとは断定できない。

そこで量的な反応性を分泌量から、また分泌されたIRIの機能性をT. I. I. で検討した。3カ月時のIRI総分泌量と増加量は実験群で差がなく、照射の影響はない。一方それらのIRIが十分機能しているかについては、実験成績での対照となる報告がない。ヒトと単純に比較はできないが、米村<sup>19)</sup>の臨床例との比較では、50%膵切除後2年以降のT. I. I.  $0.065 \pm 0.015$ に該当した。65%膵切除後2年以降でT. I. I. は $0.024 \pm 0.010$ となり、胃切を加えた際の長期予後でSandmeyer型糖尿病発生の危険性を指摘している。本実験の値では糖尿病は発生しておらず、これらのIRI分泌量で耐糖能が維持されると考えられる。しかし3週時と3カ月時とでは、分泌量・増加量は経時的に低下しており、このIRI分泌の経時的低下をもたらし何らかの機序を検討する必要がある。HE染色およびPAP染色により計測したラ島内細胞数の検討では、膵切除により総細胞数・β細胞数が減少しているが、照射による影響はない。数の減少はあるがPAP法染色でみる限りラ島形態は保たれており、照射がβ細胞を直接障害破壊して減少したとは考え難い。PAP法による染色性も良好で、ラ島機能を有していると類推できる。

電顕標本でのβ細胞の計量組織学的検索で、正常対照と比べ実験群では、①β細胞は切除単独群で大きく、照射群では小さくなる。②I顆粒は実験群で大きくなる。③β細胞1個当りのI顆粒の個数は、同等または増加する。④β細胞単位面積当りのI顆粒の個数が照射群で増加する。⑤β細胞に対するI顆粒のvolume densityが増加することが判った。このことからI顆粒の産生増加=β細胞機能の亢進が推測され



た。

林<sup>20)</sup>は膵癌の糖尿病症例を検討し、ラ島教、I顆粒の増加とラ島の委縮傾向をみている。石館<sup>21)</sup>もヒト膵癌の検索で、糖尿病合併症例ではラ島の小型のものが多く、大小不同例が多いとしている。五島<sup>17)</sup>はSandmeyer型糖尿病犬において、糖尿病初期では $\beta$ 細胞の分泌顆粒の減少と脱顆粒を認め、 $\beta$ 細胞の原形質の淡明化や委縮変性とともに関能的なIRI分泌能低下の所見としている。一方照射後の電顕所見としてVolk<sup>13)</sup>とWellmann<sup>14)</sup>は、 $\beta$ 細胞の縮小とI顆粒の変性、顆粒の形の異常を指摘しているが、8~9カ月に回復しており血糖値の異常もみえていない。Tersigni<sup>22)</sup>もイヌの膵に1回大量照射後、 $\beta$ 細胞の中等度の脱顆粒をみているが、20~25日で障害の緩和がみられ、耐糖能が保たれていることからB細胞は温存されるとしている。本実験における照射群のラ島の委縮やI顆粒の増加が、耐糖能の低下に基づくものか、照射の影響による回復可能な変化であるのかは判定しえない。しかしこれらのI顆粒が先に示したレベルで血中に移行し、血糖曲線にみた耐糖能を維持していることは明らかである。若干の耐糖能低下はあるが、ラ島機能が亢進することで維持されていると推測された。

光顕像による膵の形態学的観察では、照射群で線維化がやや進んでいる。林<sup>21)</sup>は膵癌糖尿病症例のIRIの低反応と遅延の要因に、ラ島周辺の線維化によるIRIの血中移行の障害を挙げている。桑原<sup>23)</sup>も膵癌・慢性膵炎症例の門脈血中IRI濃度の測定から、膵線維化によるIRIの門脈血中移行の低下が内分泌機能低下をもたらすとしている。しかし、著者の実験群の線維化は比較的軽度であった。本実験の線維化の程度を、木林<sup>24)</sup>の慢性膵炎に関する組織学的研究での光顕像による分類にあてはめると、grade IIからgrade IIIの初期に属する。木林の電顕像では $\beta$ 細胞の空胞形成やI顆粒の減少、粗面小胞体の不規則な拡張像をみている。grade IIIで膵島は周囲の線維化により影響をうけるが、ラ島細胞は正常な構造を有し、内分泌顆粒も十分有するため機能上ほとんど問題ないと推測している。この観察所見は本実験の内分泌能とも合致しており、形態学的面からも納得のいくものである。

電顕像の形態組織学的観察で、 $\beta$ 細胞の基底膜の肥厚と血管周囲の膠原線維の増生が観察された。一方60GY群でもゴルジ体はよく保存されていた。IRIは粗面小胞体—ゴルジ系で形成されるが<sup>25)</sup>、その形成の場で障害をうける可能性もある。I顆粒の変形はそれを

示している可能性もあるが、ゴルジ体が保存されていることから生成機能は保持されていると考える。さらにI顆粒が放出される過程に関して開口分泌方式<sup>25)</sup>などがいわれている。電顕像にみられた基底膜の肥厚がI顆粒分泌の障害となる可能性も考えられる。このことが3週時から3カ月時にかけてのIRI分泌量の低下と関係している可能性もある。さらに、IRIは分泌後ラ島周辺から外分泌細胞へ向かう膵島—腺房門脈系により運ばれる。その微細血管構築<sup>26)27)</sup>とラ島間に生じる光顕像での線維化や電顕像の血管周囲の膠原線維の増生が血中移行に影響を与える可能性もある。先の桑原<sup>23)</sup>の門脈血中IRI濃度の低下所見もこの機序と所見を考えると納得できる。

これらの組織変化については切除あるいは照射の個々の因子に分けての解析はできなかった。米村<sup>19)</sup>は膵大量切除後は $\beta$ 細胞の変性を促進する状態にあり、overfunctionにより $\beta$ 細胞の減少をきたし、Sandmeyer型糖尿病に移行すると述べている。五島<sup>17)</sup>も膵大量切除で機能的なIRI反応の低下、抗IRI系機能の亢進を認め $\beta$ 細胞の退行変性が進むとした。一方照射の影響に関して、Wellmann<sup>14)</sup>のごとく8~9カ月後に組織所見が正常に回復するとした報告もある。これらを明らかにするには各因子を区別した長期の観察結果をまたなければならない。しかし少なくとも、イヌを用いての60%膵切除・残存膵照射3カ月時において、耐糖能低下は軽微であり、IRIは機能亢進を呈するラ島 $\beta$ 細胞で産生されており、境界型を維持するレベルの血中分泌も、切除単独群と同時に保持されている事実が観察された。

## 結 語

膵部分切除後の残存膵に対する体外分割照射が、耐糖能に与える影響を知る目的で、雑種成犬を用い60%膵切除後、臨床効果30GY相当および60GY相当の照射を行い、3カ月後に種々の内分泌機能検査と組織学的観察を行い、以下の結論を得た。

- 1) 60%膵切除により耐糖能は、糖尿病境界型に低下したが、照射の有無の影響は、血糖曲線、I. I., 糖消失率K値で認めなかった。また、30GYと60GYの照射量の違いによる影響を認めなかった。
- 2) 残存膵のIRI反応は膵切除により低下したが、IRI総分泌量・増加量は、照射の有無や量による影響を認めなかった。IRIのpeak timeの回復が60GY群で遅れていた。
- 3) ラ島内総細胞数、 $\beta$ 細胞数は膵切除後減少した

が、照射の有無や量による影響を認めなかった。

4) 電顕組織の計量組織学的検討により、I 顆粒およびI 顆粒の volume density の増加がみられ、 $\beta$  細胞機能の亢進が示唆された。

5) 以上の事実から、60%膵切除後の残存腺に対する30GY, 60GYの体外分割照射は、3カ月時の耐糖能に影響を与えず、また境界型を示した耐糖能は、 $\beta$  細胞機能の亢進により維持されるものと考えられた。

稿を終るに臨み、御指導・御校閲を賜った恩師田辺達三教授に深謝の意を捧げます。また終始御助言御協力くださった加藤紘之講師、阿部一九夫助手、本学放射線学教室辻博彦助教授、札幌医科大学第2病理学教室吉田豊講師、ならびに第2外科学教室員諸兄に、感謝の意を表します。

なお本論文要旨は、第84日本外科学会総会、第85回日本外科学会総会で発表した。

#### 文 献

- 1) Miller TR, Fuller LM: Radiation therapy of carcinoma of the pancreas. *Am J Roentgenol* 80: 787-792, 1958
- 2) 小高通夫, 竜 崇正, 碓井貞二ほか: 消化器癌に対する放射線療法(肝・胆・膵). *日外会誌* 85: 1067-1071, 1984
- 3) Orton CG, Ellis S: A simplification in the use of the NSD concept in practical radiotherapy. *Br J Radiol* 46: 529-537, 1973
- 4) Seltzer HS, Smith WL, Dallas MS: Plasma insulin activity after glucose. *Diabetes* 8: 417-424, 1959
- 5) Lundbaek K: The intravenous glucose tolerance test. *Triangle* 6: 194-198, 1964
- 6) Miyata M, Takao T, Okamoto E: An appraisal of pancreatoduodenectomy based on insulin secretion. *Am J Surg* 133: 577-581, 1977
- 7) Seltzer HS, Alle EW, Horron AL: Insulin secretion in response to glycemic stimulus. *J Clin Invest* 46: 323-335, 1967
- 8) Sternberger LA, Hardy PH, Curulis JJ et al: The unlabeled antibody enzyme method of the immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 18: 315-333, 1970
- 9) Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF: Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol* 30: 23-38, 1966
- 10) Fisher NF, Groot JT, Bachem A: The effect of X-ray on the pancreas. *A, J Pathol* 76: 299-305, 1926
- 11) Orndoff BH, Farrell JJ, Ivy AC: Studies on effect of roentgen rays on glandular activity. *Am J Roentgenol* 16: 349-354, 1926
- 12) Archambeau J, Griem M, Harper P: The effect of 250-KV X-ray on the dogs. *Radiation Res* 28: 243-256, 1966
- 13) Volk BW, Wellmann KF, Lewitan A: The effect of irradiation on the fine structure and enzymes of the dog pancreas. *Am J Pathol* 48: 721-753, 1966
- 14) Wellman KF, Volk BW, Lewitan A: The effect of radiation on the fine structure and enzyme content of the dog pancreas. *Lab Invest* 15: 1007-1023, 1966
- 15) Fletcher GH: Clinical dose response curves of human malignant epithelial tumours. *Br J Roentgenol* 46: 1-12, 1973
- 16) Pieroni PL, Rudick J, Adler M et al: Effect of irradiation on the canine exocrine pancreas. *Ann Surg* 184: 610-614, 1976
- 17) 五島博道: 膵切除後糖尿病の病態生理の研究. 特に Sandmeyer 型糖尿病における糖代謝ならびに膵島の変化について. *日外会誌* 80: 542-551, 1979
- 18) Grodsky GM, Landahl H, Curry H et al: In vitro studies suggesting a two compartmental model for insulin secretion. Edited by Falker S The structure and metabolism of the pancreatic islets. Pergamon Press, Oxford, 409-421, 1970
- 19) 米村 豊: 膵切除量と膵内分泌. *十全医会誌* 88: 307-337, 1979
- 20) 林 訥欽, 森 洋, 織部孝史ほか: 膵癌症例における糖尿病との関連性について. *日消外会誌* 15: 1758-1764, 1982
- 21) 石館卓三: 原発性膵癌の病理組織学的研究. 第2編. 原発性膵癌と併発性糖尿病との関係. *秋田医誌* 4: 18-28, 1967
- 22) Tersigni R, Toredó-Pereyra LH, Parestini M et al: Effect of ex vivo hypothermic irradiation on duct ligated pancreas allografts in dogs. *Am Surg* 46: 713-721, 1980
- 23) 桑原義明: 膵癌と慢性膵炎における膵内分泌機能障害の発生機序について. *日外会誌* 86: 73-83, 1985
- 24) 木林速雄: 慢性膵炎における膵島細胞の組織化学的, 電子顕微鏡的研究. *岡山医誌* 87: 497-527, 1975
- 25) 渡 仲三: 膵内分泌細胞の電子顕微鏡的観察. *日臨* 31: 490-504, 1973
- 26) 柳沼信久, 高橋 徹, 斎藤 謙ほか: 人膵臓の構築原則に関する研究. *日消病会誌* 78: 1282-1291, 1981
- 27) 永田和之: 膵臓の微小血管構築および循環動態に関する研究(その1) —とくに膵内外分泌の相関について. *慈恵医大誌* 96: 673-686, 1981