

## イヌにおける肝切除後の膵内分泌系の変化について

京都大学医学部第1外科学教室

平野 鉄也 真辺 忠夫 山木健一郎  
浅野 昇 戸部 隆吉

### CHANGES OF ENDOCRINE PANCREAS AFTER PARTIAL HEPATECTOMY IN DOGS

Tetsuya HIRANO, Tadao MANABE,  
Kenichiro YAMAKI, Noboru ASANO  
and Takayoshi TOBE

First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

肝切除後の肝再生過程での膵内分泌系の役割を解明する目的で、イヌにおいて40%肝切除後経時的に門脈血中膵ホルモンを測定するとともに経静脈的耐糖能検査と膵生検を施行し、耐糖能および組織学的に膵島とその構成要素であるA, B, D細胞の変化を観察した。肝切除2日後門脈血中インスリンは59%、ソマトスタチンは53%と有意に低下し、膵グルカゴンは173%に上昇(いずれも $p < 0.05$ )し、この傾向は約1週間持続した。膵島は肝切除1週間後有意に増大し、A, B, D細胞は全てが1.5倍に増大した。経静脈的耐糖能検査による耐糖能は術後早期に低下し、肝切除後の膵内分泌系における機能と形態でのかい離が認められ、肝切除後の肝膵相関の複雑な関連性が示唆された。

索引用語：膵ホルモン、膵島、肝切除術、肝膵相関

#### はじめに

肝と膵は門脈系によって連結されており、臓器相関の上からも密接な関連性をもっている。一方、肝切除後の肝再生過程においては、膵ホルモン、特にインスリンとグルカゴンがhepatotrophic factorとして重要であることが以前より報告されている<sup>1)~3)</sup>。しかしながら、それらの報告は主として肝切除後のごく早期の変化で、しかも分離肝細胞による初代肝細胞培養を用いたin vitroの系での研究<sup>4)</sup>であり、肝切除後に、肝・膵相関という見地から数週間にわたりin vivoでの門脈血中の膵ホルモンの変動や、組織学的に膵島や耐糖能の変化を観察した報告は少ない。今回、われわれは、イヌにおいて肝切除後、門脈血中の膵ホルモンの変動を経静脈的耐糖能検査における耐糖能の変化および膵島の組織学的変化とともに観察したので報告する。

#### 材料および方法

体重12kgから14kgのBeagle成犬4頭にleft lateral lobeおよびleft central lobeの2葉を切除する左側の約40%肝切除術をペントバルビタール麻酔下に施行し、

1. 術前より脾静脈の分枝より門脈本幹に挿入留置しておいたカテーテルより、空腹覚醒時に、門脈血を採取し、肝切除後1, 2, 3, 4, 5日目、および1, 2, 3週間目にインスリン、膵グルカゴン、ソマトスタチン値をradioimmunoassay(RIA)にて、また、血糖値をglucose oxidase法<sup>5)</sup>にて測定した。インスリンについては固相化ビーズを用いた測定法<sup>6)</sup>を用い、膵グルカゴンについては、膵グルカゴン特異抗体OAL-123を用いたRIA<sup>7)</sup>、ソマトスタチンについては合成ソマトスタチンを用いて作成した抗体によるRIA<sup>8)</sup>で測定した。

2. 肝切除後、1, 2週間目に0.5g/kgの経静脈的耐糖能検査を施行し、前値、5, 15, 30, 45, 60分後まで、血糖、インスリンおよび膵グルカゴンを前記の方

<1989年6月7日受理>別刷請求先：真辺 忠夫  
〒606 京都市左京区聖護院川原町54 京都大学医学部第1外科

法にて測定した。経静脈的耐糖能検査においては血糖消失率 (K 値), 15分での insulinogenic index (I.I), integrated increased insulin (インスリン分泌増加量:  $\Sigma\Delta IRI$ ), および膵グルカゴンについては, glucose 負荷前値の glucose 負荷後15分値に対する比を IRG ratio として表現し, glucose による膵グルカゴンの分泌抑制の程度の指標とした。

3. 肝切除後, 1, 2 週間目にベントバルビタール全身麻酔下に開腹し, 膵右葉尾側部にて膵生検を施行し, 少量の組織を採取し, 10%中性ホルマリンにて固定後, hematoxylin-eosin 染色法にて, 膵島の変化(膵島の面積および核数の変化)を, また peroxidase antiperoxidase (PAP) 染色法によって, 膵島内の A, B, D 細胞の変化を観察した。膵島については各時期に at random に200個の膵島についてその面積を顕微鏡写真下に測定し, また, A, B, D 細胞についても, 各時期について at random に200個観察し検討した。

4. なお, 4 頭の成犬に全身麻酔下にて単開腹し, 門脈本幹にカテーテル挿入留置のみを施行し, 肝切除群と同様の実験操作を加えコントロール群として検討した。

5. 結果は, 一部を除き, 平均±標準誤差として表わし, 各グループ間の検討には Student の t 検定を用い,  $p < 0.05$  をもって有意差ありと判定した。

結 果

1. 肝切除後, 門脈血中膵ホルモンの変動については, インスリンは肝切除後, 2, 3 日目に  $10 \pm 2 \mu U/ml$ ,  $9 \pm 3 \mu U/ml$  となりコントロール群 ( $17 \pm 3 \mu U/ml$ ,  $17 \pm 2 \mu U/ml$ ) に比べ, 有意に ( $p < 0.05$ ) 低下した。ソマトスタチンも肝切除後, 1, 2 日目に  $57 \pm 8 pg/ml$ ,  $75 \pm 12 pg/ml$  となりコントロール群 ( $128 \pm 26 pg/ml$ ,  $142 \pm 16 pg/ml$ ) に比べ有意に低値を示した ( $p < 0.05$ )。膵グルカゴンについては, 逆に, 肝切除後, 1, 2, 5 日目に  $550 \pm 167 pg/ml$ ,  $564 \pm 89 pg/ml$ ,  $544 \pm 118 pg/ml$  となり, コントロール群 ( $318 \pm 56 pg/ml$ ,  $325 \pm 94 pg/ml$ ,  $304 \pm 94 pg/ml$ ) に比べ, 有意に ( $p < 0.05$ ), 高値を示した(図 1a, b, c)。しかし血糖値については, 肝切除後, コントロール群と比べ, 有意な変動は示さなかった(図 2)。

また, いずれの膵ホルモンも肝切除後1週間目まで著明な変動を示したが, 肝切除後2週間目にはコントロール群と同様の値を示し, 肝切除前に回復する傾向を示した。

2. 経静脈的耐糖能検査における耐糖能の変化とし

図1 肝切除後の門脈血中, a: インスリン, b: 膵グルカゴン, c: ソマトスタチン, の変動(実線: 肝切除, 破線: 対照, n=4, mean±SE)

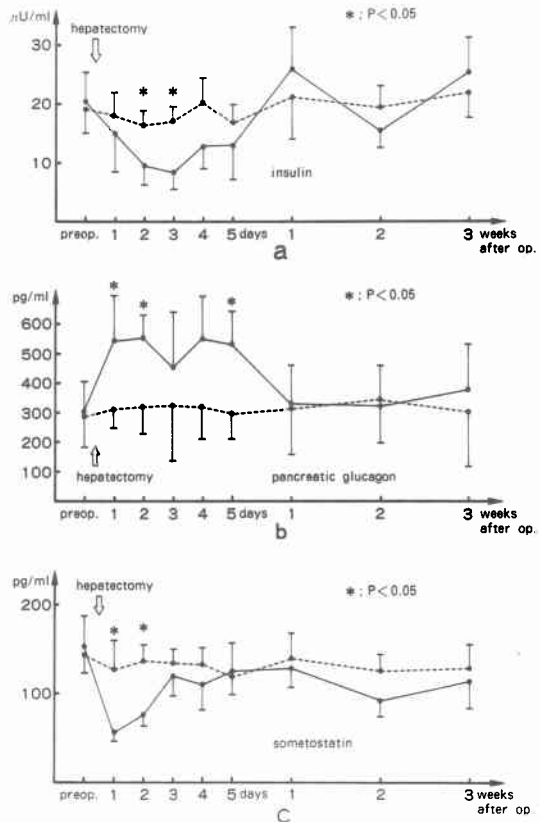
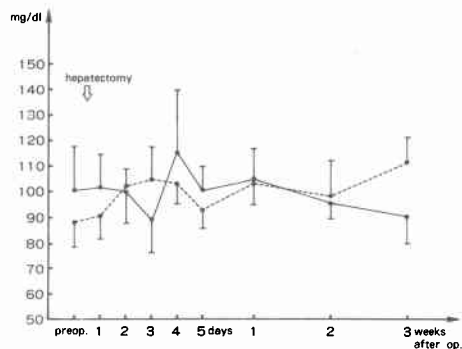
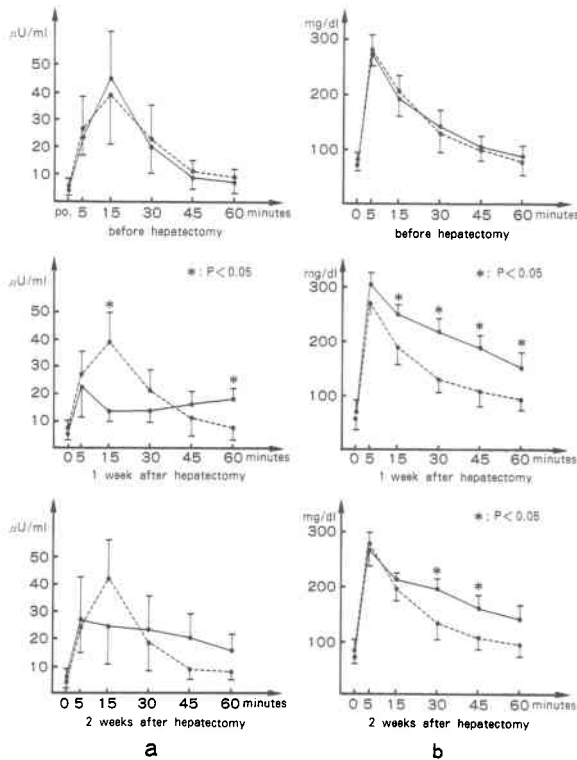


図2 肝切除後の門脈血中血糖値の変動(実線: 肝切除, 破線: 対照, n=4, mean±SE)



ては, 肝切除後1週間目には, glucose 負荷に対するインスリンの反応は低下し, 血糖も上昇し, 15分値ではインスリンは  $13 \pm 3 \mu U/ml$ , 血糖値は  $251 \pm 17 mg/dl$  となり, コントロール群(インスリン:  $39 \pm 10 \mu U/ml$ ,

図3 肝切除前(上段), 1週間後(中段), 2週間後(下段)の経静脈的耐糖能検査によるインスリン(a), 血糖(b)の変動(実線:肝切除, 破線:対照, n=4, mean±SE)

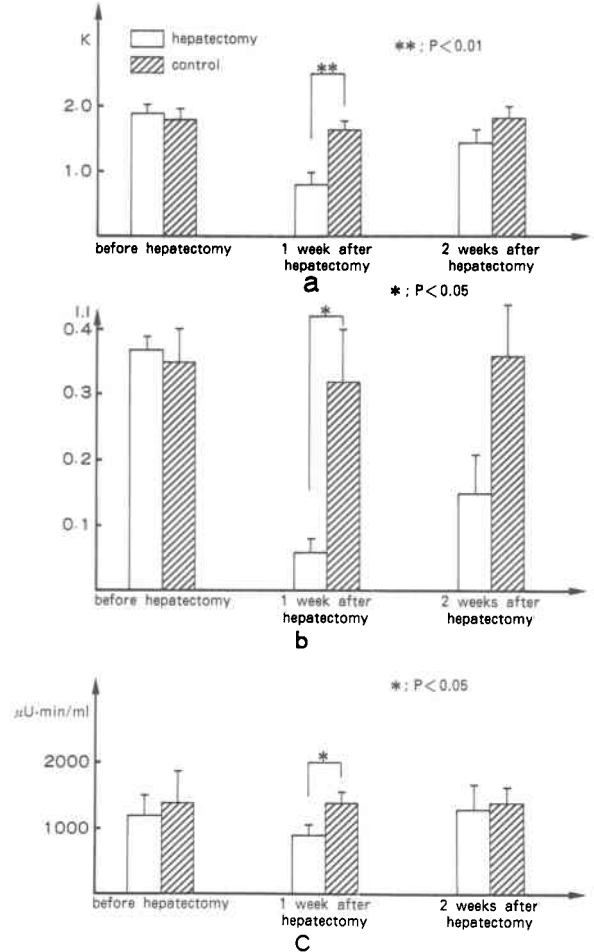


血糖値:  $190 \pm 28 \text{mg/dl}$ ) に比べ, 有意な ( $p < 0.05$ ) 変化を示し, 糖尿病様の値を示した (図 3a, b).

K 値は肝切除後 1 週間目に  $0.84 \pm 0.18$  を示し, コントロール群 ( $1.65 \pm 0.11$ ) に比べ, 有意に ( $p < 0.01$ ) 低値を示し, I.I 値は肝切除後 1 時間目に  $0.06 \pm 0.02$  となり, コントロール群 ( $0.32 \pm 0.08$ ) に比べ, 有意の ( $p < 0.01$ ) 低値を示し,  $\Sigma\Delta\text{IRI}$  も肝切除後 1 週間目に  $931 \pm 147 \mu\text{U}\cdot\text{min/ml}$  となり, コントロール群 ( $1,382 \pm 168 \mu\text{U}\cdot\text{min/ml}$ ) に比べ有意に ( $p < 0.05$ ) 低下したが, これら 3 つのパラメーターは肝切除後 2 週間目にはコントロール群に近づき回復の傾向を示した (図 4a, b, c).

一方, 膵グルカゴンの糖負荷に対する反応は, 肝切除後 1 週間目には, glucose 負荷に対する分泌抑制がみられず, IRG ratio は  $0.95 \pm 0.08$  となりコントロール群 ( $0.76 \pm 0.06$ ) に比べ, 有意に ( $p < 0.05$ ) 高い値を示したが, これも肝切除後 2 週間目には肝切除前の状態に回復する傾向を示した (図 5a, b).

図4 肝切除後の血糖消失率(K値)(a), insulinogenic index (I.I)(b), インスリン分泌増加量 ( $\Sigma\Delta\text{IRI}$ )(c) (白ヌキ:肝切除, 斜線:対照 n=4, mean±SE)



3. 組織学的には, 肝切除後 1 週間目には膵島の面積は  $1,085 \pm 39 \mu\text{m}^2$ , 2 週間目には  $2,342 \pm 177 \mu\text{m}^2$  となり, コントロール群 ( $712 \pm 45 \mu\text{m}^2$ ,  $742 \pm 56 \mu\text{m}^2$ ) に比べ, 有意に ( $p < 0.001$ ) 増大し, 膵島内の核数も肝切除後 1 週間目に  $24 \pm 18$  個/島, 2 週間目に  $69 \pm 35$  個/島となりコントロール群 ( $18 \pm 4$  個/島,  $22 \pm 8$  個/島) に比べ有意に増加した ( $p < 0.001$ ) (図 6a, b).

A 細胞については, 肝切除後 1 週間目に,  $9 \pm 4$  個/島, 2 週間目に  $18 \pm 8$  個/島となりコントロール群 (1 週間目:  $6 \pm 2$  個/島, 2 週間目:  $5 \pm 2$  個/島) に比べ, 有意に ( $p < 0.001$ ) 増加した. B 細胞は肝切除後 1 週間目に  $15 \pm 5$  個/島, 2 週間目に  $26 \pm 10$  個/島とな

図5 肝切除前, 1週間後, 2週間後の経静脈的耐糖能検査に対する末梢血グルカゴンの変動。(a) 経静脈的耐糖能検査の前値を1.0とした時の変化(実線: 肝切除, 破線: 対照, n=4, 平均値), (b) IRG比, 糖糖負荷15分値/糖負荷前値 (白ヌキ: 肝切除, 斜線: 対照, n=4, mean±SE)

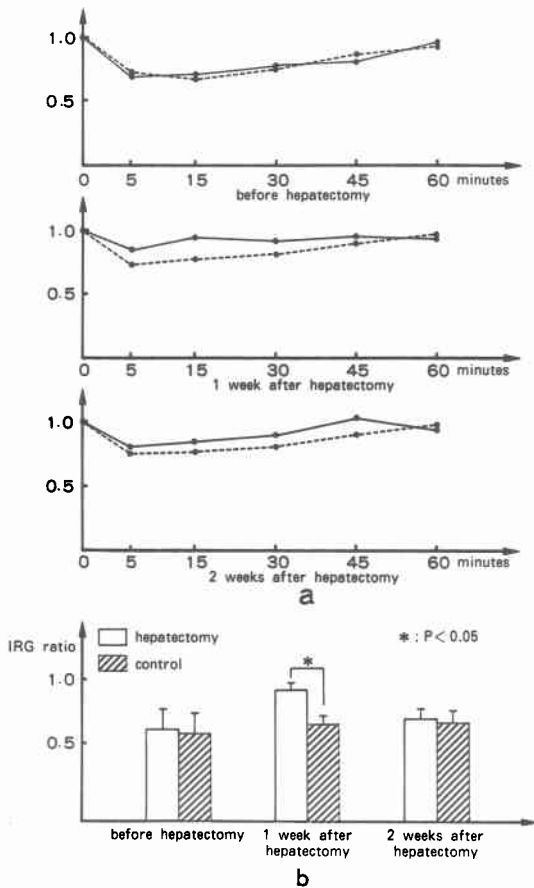
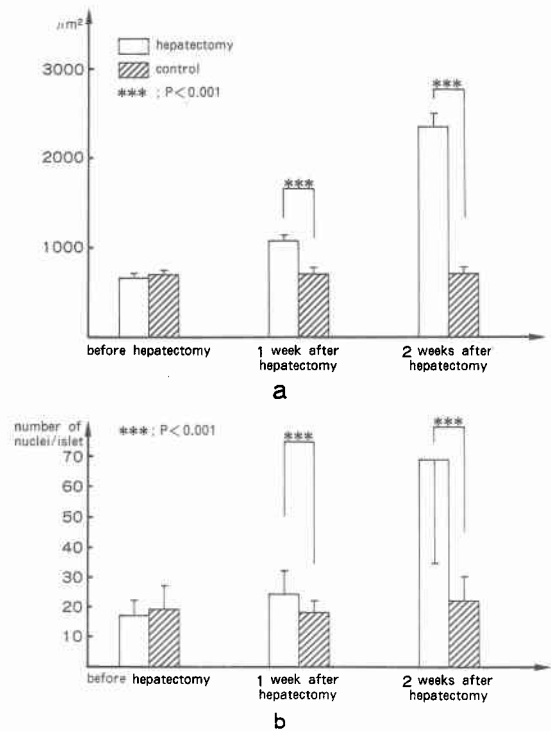


図6 (a) 肝切除後の膵島の大きさ (mean±SE, n=200), および (b) 膵島の核数 (mean±SD, n=200) (白ヌキ: 肝切除, 斜線: 対照)



り, コントロール群(1週間目: 10±2個/島, 2週間目: 12±4個/島)に比べ, 有意に (p<0.001) 増加した。D細胞も同様に, 肝切除後1週間目に12±5個/島, 2週間目に15±4個/島となり, コントロール群(1週間目: 8±2個/島, 2週間目: 9±3個/島)に比べ, 有意に (p<0.001) 増加したが, 特にA細胞の増加率が著明であった(図7a, b, c)。

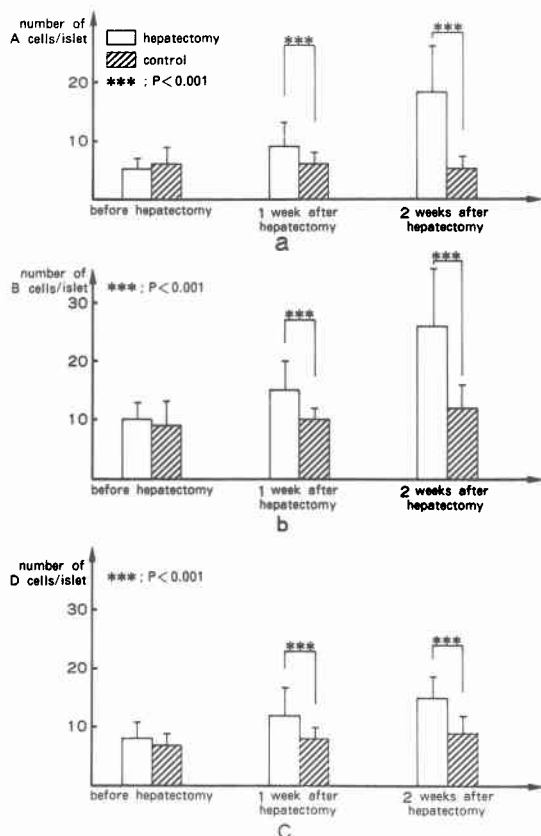
考 察

肝切除後の肝再生過程において, 膵ホルモンであるインスリン, グルカゴンが重要なことは従来より報告されている<sup>1)~3)</sup>。門脈血中のインスリン値については, 肝切除後早期には, その値はむしろ低下し, グルカゴ

ン値については, 逆に上昇するという報告が多いが<sup>9)10)</sup>, 今回のわれわれの実験の結果もそれらの報告と同様の傾向を示したが, その傾向は肝切除後1~2週間持続するという新たな知見を得ることができた。このことは, 肝切除後の膵内分泌系に対する影響を観察する場合, 数週間の観察期間が必要なことを示唆した。肝切除後には, 組織学的, 形態学的には, 膵島の増大とともに, その構成要素であるA, B, D細胞のすべての増加が認められ, 形態学的には, 肝切除後の膵内分泌系は機能亢進状態を示唆させた。一方, 経静脈的耐糖能検査による glucose 負荷に対する反応をみると, 末梢血では高血糖とともにインスリンの低反応性が示された。

このように, インスリンは形態面と機能面でのかい離がみとめられた。膵グルカゴンは, 逆に glucose 負荷に対する分泌抑制反応を喪失したような変動を示した。膵グルカゴンに関しては, 肝切除後その門脈血中の値は高値に維持されており, 組織学的にも, 肝切除後, 膵島内のA細胞数も増加した。肝切除後早期に

図7 肝切除後の膵島のA細胞(a), B細胞(b), D細胞(c), (白ヌキ:肝切除, 斜線:対照, n=200, mean±SD)



は, glucose 負荷に対する膵グルカゴンの反応が抑制されないことは, 肝切除後の残肝でのグルカゴンの取込みの促進<sup>10)11)</sup>, すなわち, 残肝での hepatotrophic factor としての消費が高まっていることを示していると考えられる。一方, インスリンの形態面と機能面でのかい離に対しては, insulo-acinar axis の存在が考えられる。以前より, 膵島の近傍の膵腺房細胞は peri-insular acinar cell と呼ばれ, 膵島より遠位の膵腺房細胞 (tele-insular acinar cell) より大きいことが報告<sup>12)13)</sup>されている。

さらに, 解剖学的にも, 膵島から直接に膵腺房細胞にいたる膵内局所門脈系 (insulo-acinar portal system) の存在<sup>14)</sup>が証明されており, 膵腺房細胞ではインスリンレセプターもみとめられる<sup>15)16)</sup>ことから, 膵ホルモンは膵腺房細胞の機能維持のために重要な役割<sup>17)</sup>を演じていると考えられる。特に, インスリンに関

しては, 膵腺房細胞での膵消化酵素, とりわけ, amylase の合成に非常に重要であり, 糖尿病患者では膵内の amylase の含有量も減少しているといわれている<sup>18)</sup>ことから, 膵外分泌系の機能維持に対するインスリンの果す役割は大きいと思われる。

このように, インスリンは膵外分泌系の機能維持, および, 肝切除後の残肝における hepatotrophic factor として, また energy charge の維持<sup>19)</sup>のために非常に重要と考えられた。

さらに, 残肝の肝再生過程で, 肝切除前の重量に回復するのに当然必要とされる糖質を主体とした種々の栄養素およびエネルギー源の消化管よりの消化・吸収を目的とした膵腺房細胞中での amylase の合成と分泌を高めるためにもインスリンは, insulo-acinar axis を介して, 多量に消費されると考えられた。

ひいてはこのことが肝切除後早期における耐糖能の低下を生みだしていると考えられた。

また, 肝切除後には, 膵島の構成要素である A, B, D 細胞のすべてが増加することがみとめられ, このうち A, B 両細胞は, hepatotrophic factor として, また膵腺房細胞の機能維持のために合目的に増加すると考えられるが, D 細胞の増加の理由については, 現時点では明らかではない。糖尿病では, D 細胞が増加するとの報告<sup>20)</sup>もあり, 肝切除後においてもソマトスタチンは B 細胞からのインスリン分泌を抑制し, 膵グルカゴンの高値の維持とあいまって高血糖の形成に関与し, ひいては肝切除後早期の耐糖能の低下の一因になっていると思われた。このように, 肝切除後の膵内分泌系では, 膵ホルモン動態および, 膵島の形態学的, 機能的変化からみて, 数週間にわたり複雑な変化が生じていることが示唆された。今後は, 膵外分泌系と消化管ホルモンを含めた消化管と膵内・外分泌系との相関についての研究が必要と思われた。

#### まとめ

1. イヌにおいて, 約40%の肝切除後早期には, 門脈血中インスリンとソマトスタチン値は低下したが, 膵グルカゴン値は逆に上昇を示し, その傾向は肝切除後約2週間まで持続した。

2. 肝切除後, 膵島の面積は増大し, その構成要素である A, B, D 細胞数もすべて増加したが, 特に, A 細胞数の増加率が高かった。

3. 肝切除後早期では, 経静脈的耐糖能検査による glucose 負荷に対する末梢でのインスリンの反応は低下し, 逆に, 膵グルカゴンは glucose 負荷に対しての分

泌抑制反応がみとめられなかった。

以上より、肝切除後には、膵グルカゴンは hepatotropic factor として、インスリンはさらに膵外分泌系を介して残肝に影響を与えていると考えられ、それらのインスリンとグルカゴンの反応はまた肝切除後早期の耐糖能の低下の一因とも考えられた。ソマトスタチン含有細胞である D 細胞の増加も肝切除後早期の耐糖能の低下の一因となっている可能性が示唆された。

#### 文 献

- 1) Price JB, Takeshige K, Max MH et al: Glucagon as the portal factor modifying hepatic regeneration. *Surgery* 72 : 74-82, 1972
- 2) Bucher NLR, Swaffield MN: Regulation of hepatic regeneration in rats by synergistic action of insulin and glucagon. *Proc Natl Acad Sci* 72 : 1157-1160, 1975
- 3) Starzl TE, Francavilla A, Porter KA et al: The effect of splanchnic viscera removal upon canine liver regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 147 : 193-207, 1978
- 4) Richman RA, Claus TH, Pilakis SJ et al: Hormonal stimulation of DNA synthesis in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci* 73 : 3589-3593, 1976
- 5) Bruss ML, Black AL: Enzymatic microdetermination of glycogen. *Anal Biochem* 84 : 309-312, 1978
- 6) 兵頭常一, 難波 修, 中村公一ほか: 固相化ビーズを用いる血中 IRI 測定法の臨床応用—特に従来の 2 抗体法との比較について—. *ホルモンと臨* 31 : 1129-1138, 1983
- 7) Nishino T, Kodaira T, Shin S et al: Glucagon radioimmunoassay with use of antiserum to glucagon C-terminal fragment. *Clin Chem* 27 : 1690-1697, 1981
- 8) 山口 建, 安達 勇, 宮川澄子ほか: Somatostatin 産生腫瘍における大分子 Somatostatin の存在について. 消化管ホルモン研究会編, 消化管ホルモン(I), 医学図書出版, 東京, 1981, p228-235
- 9) Caruana JA, Gage AA: Increased uptake of insulin and glucagon by the liver as a signal for regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 150 : 390-394, 1980
- 10) Leffert HL, Koch KS, Moran T et al: Hormonal control of rat liver regeneration. *Gastroenterology* 76 : 1470-1478, 1979
- 11) Watanabe A, Higashi T, Hayashi S et al: Insulin and glucagon in the portal and peripheral blood in liver-injured and partially hepatectomized rats. *Gastroenterol Jpn* 17 : 36-41, 1982
- 12) Hellmann BA, Wallgren A, Peterson B: Cytological characteristics of the exocrine pancreas cells with regards to their position in relation to the islet of Langerhans. *Acta Endocrinol* 39 : 465-473, 1962
- 13) Bendayan M: Morphological and immunohistochemical characterization of peri-insular and tele-insular acinar cells in the rat pancreas. *Eur J Cell Biol* 36 : 263-268, 1985
- 14) Fujita T: Insulo-acinar portal system in the horse pancreas. *Arch Histol Jpn* 35 : 161-171, 1973
- 15) Korc M, Sankaran H, Wang KY et al: Insulin receptors in isolated mouse pancreatic acini. *Biochem Biophys Res Commun* 84 : 293-299, 1978
- 16) Sjodin L, Holmberg K, Leyden A: Insulin receptors on pancreatic acinar cells in guinea pigs. *Endocrinology* 115 : 1102-1109, 1984
- 17) Williams JA, Goldfine ID: The insulo-pancreatic acinar axis. *Diabetes* 34 : 980-985, 1985
- 18) Korc M, Owerbach D, Quinto C et al: Pancreatic islet-acinar cell interaction: Amylase messenger RNA levels are determined by insulin. *Science* 213 : 351-353, 1981
- 19) Ozawa K, Yamada T, Honjo I et al: Role of insulin as a portal factor in maintaining the viability of liver. *Ann Surg* 180 : 716-719, 1974
- 20) Orch L, Baetens D, Rufener C et al: Hypertrophy and hyperplasia of somatostatin containing D cells in diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 73 : 1338-1342, 1976