群馬大学医学部, 解剖学教室 (主任: 伊東教授).
Anat. Inst. (Vorstand: Prof. T. ITO), Mediz. Fak., Gunma Univ., Maebashi.

アロクサン給与と下垂体剔除がラット膵臓の LANGERHANS 氏島に及ぼす影響.

Influences of alloxan administration and hypophysectomy on the
pancreatic islets of the rat.

小林 寛, 高橋嘉幸, 城下 尚.

Kan KOBAYASHI, Yoshiyuki TAKAHASHI
and Takashi JOHSHITA.

(Received November 14, 1964.)

哺乳類の膵臓の Langerhans 氏島に関する組織学的な研究は多数報告されており (Ferner 1952, 伊東, 高橋, 馬原 1961 参照), またアロクサン糖尿病や下垂体抽出物給与による糖尿病などについても数多くの研究がなされている (Ferner 1952, Lazarus と Volk 1962 等参照). 近時 Hellman らは彼等の鍍銀法 (1960) を用いて A 細胞を少数の銀好性 A₁ 細胞と多数の銀好性を示さない A₂ 細胞に分類し, A₁ 細胞を各種の動物で証明したが, この細胞の本態についてはなお不明な点が多い. 私たちはラットを用いてアロクサン給与と, 下垂体剔除が島細胞に及ぼす影響を組織学的, 細胞学的に調べると同時に, A₁ 細胞の変動を観察し, 少数例ではあるが興味ある所見を得たのでここに報告する.

I. 材料と方法.

呑龍系ラットの雄 4 匹を用い, 生後約 6 ケ月目からアロクサン給与を開始した. 体重 1 kg あたり 150 mg のアロクサンを 1 日おきに皮下注射によって給与した. 3 例では 15 回 (1 ケ月) 給与し, 最終給与後 24 時間にして屠殺し, 1 例では 14 回給与し, 最終給与後 72 時間にして屠殺し, 検査した (表 1). 先ず断頭し, anthrone 法によって血糖を測定した. Anthrone 法は anthrone 試薬 (72 vol. % 硫酸 100 ml に anthrone 200 mg を溶解する) 5 ml を試験管にとり, 氷水中で充分冷却する. 一方ラットの血清に等量の 10 % TCA (トリクロール酢酸) を加え, 充分に混合して遠心沈澱した上清を水で 1/10 にうすめ, その 1 ml に anthrone 試薬 5 ml を加え, 充分振る. 取り出してしばらく室温に放置後, 沸とう水中で 10 分間加熱し, 吸光度を Beckmann の光电比色計で測定した. 既知のブドウ糖標準液について呈色曲線を求めた (白寄, 奥寺, 佐藤 1958). また生後 1 ケ月の 30 匹の同系雄ラットの下垂体を剔除し, 1 ケ月後に 5 匹を屠殺し, 組織標本作製したが, こ

Table 1. Body weight of rats (g).

Animal number	Control group	Alloxan group		Hypophysectomized group
		Initial body weight	At the time of sacrifice	
1	280	310	252	87
2	310	360	340	79
3	295	290	220	102
4	253	(260)	283)*	86
5	303			(188)**

Alloxan group: 150/mg alloxan was given subcutaneously to each rat every other day for one month (15 times), and three animals were sacrificed at 24 hours after the last injection. *A case sacrificed at 72 hours after 14 times alloxan injections.

Hypophysectomized group: One month old rats were hypophysectomized, and sacrificed at five months after hypophysectomy. **A case in which only adenohipophysis was removed.

片に Hellman ら (1960) の鍍銀法を施し, A₁ 細胞を各群について調べた。

では血糖値は測定しなかった。下垂体剔除後 5 ヶ月目で生存したのは 5 匹のみで, この 5 匹を断頭し, 血糖値を測定し島の組織学的検査を行なった。対照群として 5 匹の同系雄ラットを用いた。

同時に各実験群と対照群から脾臓を採取して直ちに Levi 氏液, Zenker-formol, Bouin 氏液で固定し, 3—4 μ のパラフィン切片として azan 染色, aldehyde-fuchsin-light green-orange G (AFLO) 染色, chromealum-hematoxylin-phloxin (CHP) 染色を施し, グリコゲンの証明には 過沃度酸-Schiff (PAS) 反応を行ない, 常に唾液消化試験を行なった。なお Bouin 固定切片に Hellman ら (1960) の鍍銀法を施し, A₁ 細胞を各群について調べた。

II. 所 見.

A. 正常ラット (対照群) の L 島の形態と分布及び各種島細胞の特性.

ラットの L 島は脾臓の尾部に多く, 外分泌性終末部の間に散在性に出現し, 種々の大きさの球形ないし楕円形の島細胞群である。島は不完全な結合組織性被膜で包まれ, 内部へは少量の結合組織を伴った毛細血管がかなり豊富に侵入する。被膜が中断している部分では島細胞と外分泌細胞が直接連続している。島の主体をなすのは B 細胞であって, A 細胞より遙かに多く, 一般に島の中央の大部分を占め, A 細胞は島の周辺部に 1—3 列の不完全な薄層をなして存在する (図 1)。D 細胞は希れで, 出現不定である。島細胞を大, 中, 小島に分けることが出来るが, 伊東, 高橋, 馬原 (1961) が成人脾臓で観察した如く, 終末部の外分泌細胞の間に出現する単独島細胞もまれに認められた。また, 導管系と関係のある島細胞もあり, その出現部位によって次の 3 階級が分けられる。a° 単独島細胞または小さい島細胞群が導管上皮内に出現するもの, b° 小群が上皮底面より結合組織へ色々な程度に膨出するもの, c° 小群が上皮直下に出現するものなどである。一般にこれら小群は A, B 両細胞より成るが, A 細胞が多い。

A 細胞の特性.

A 細胞は円形, 楕円形, 紡錘形等で, 大きさは種々で一般に島の周辺部に不完全な薄層をなくして出現する。核は円形か楕円形で, その位置は不定である。核

小体は外分泌細胞のものよりはるかに小さく、1—数個含まれる。個々の細胞のもつ α 顆粒の量にはかなりの差が認められ、それによって細胞の大きさも種々である。AFLO 染色によって α 顆粒は黄色に染まり、CHP 染色では phloxin で赤染するが、azan 染色の方がより強く赤染するので A 細胞の観察には azan が最適である (図 1)。 α 顆

Fig. 1. A medium-sized islet of LANGERHANS from a normal (control) rat. A cells (dark) are located exclusively in the periphery of the islet making an incomplete thin layer, while B cells (light) occupy the major inner part of it. Many blood capillaries are found in the islet. BOUIN, azan. $\times 480$.

粒は細胞質の全域に分布し、特に毛細血管側に集まる傾向はなく、すなわち極性は認められない。

A₁ 細胞.

Hellman 等の鍍銀法を行なうと、A 細胞は細胞質が黒化する所謂銀好性 A₁ 細胞と黒化しない A₂ 細胞に分けられるが、

Fig. 2. A large islet from a control rat. A few argyrophil A₁ cells are found scattering between the peripheral layer of non-argyrophil A₂ cells and the central B-cell group. BOUIN, silver impregnation after HELLMAN et al. $\times 480$.

対照群ラットの島においては A₁ 細胞は常に島の周辺部を囲む A 細胞層と内部を占める B 細胞群との接触部に少数に出現する (図 2)。恐らく A 細胞層の最内層にある A 細胞の

1 部が所謂 A₁ 細胞であろうと思われる。その形と大きさに差はあるが、他の染色標本で見られる A 細胞と等しい。核は円形か楕円形で、大きさも普通であり、黒化した細胞質に囲まれて明るく見える。数は少なく、島の全周に散在性に出現し、2, 3 個集団をなすものもある。全島細胞数に対する A₁ 細胞の出現率を算出したところ平均 4.4% であった (表 3)。

B 細胞の特性.

B 細胞は円形、楕円形等で、核も円形から楕円形であり、核小体は 1—数個含まれる。B 細胞の核の大きさは A 細胞と同様に外分泌細胞のものと殆んど変わらないが、核小体は小さく、この点において外分泌細胞と見分けられる。しかし A 細胞のものと区別し難い。

β 顆粒は azan で橙色に染まるが、AFLO 染色では濃紫色に染め出され、B 細胞

Fig. 3. A large islet from a control rat. B cells found in the inner part of the islet contain various amounts of β granules (dark). The peripheral A cells appear light in good contrast with the B cells. BOUIN, aldehyde-fuchsin and lightgreen-orange G (AFLO). $\times 240$.

の観察には AFLO 染色が好適である。正常なラットにおいては β 顆粒の量は一般に多いが、個々の細胞で多少異なる (図 3)。その分布は A 細胞と同様、毛細血管に対して著明な極性を示さない。

多くの B 細胞の核の 1 側に輪状または馬蹄形の明るい細管構造が認められる。これは Golgi 陰像である。AFLO 染色では B 細胞のみならず、A 細胞の細胞質内に少数の深紫色にそまり特殊顆粒よりは大きい顆粒が

認められるが、その本態は明らかでない。普通コロイド滴と呼ばれる顆粒よりは小さい。この顆粒は以下述べるアロクサン給与群と下垂体剔除群にも A, B 細胞に認められた。

B. アロクサン給与群に於ける L 島の変化.

体重 1kg あたり 150mg のアロクサンを隔日に 15 回注射し、最終回の注射より 24 時間後に屠殺した 3 例では表 1 の如く体重の減少があった。ところが 14 回目までは前例と同様にアロクサン給与を行ない 15 回目の給与をはぶいた 1 例、すなわち最終回の注射後 72 時間で屠殺した 1 例では体重の増加が見られた (表 1)。血糖値は前者では対照群のほぼ 3—4 倍の値を示したのに対して、後者では対照

群と殆んど変わらない値を示した(表2). アロクサン糖尿よりの恢復の徴候がある. 対照群では前述の如く A 細胞は島の周辺部に局限して薄層をなして不連続的に分布するが, 15回アロクサン給与群では島の内部にも A 細胞が出現する(図4). 詳細に観察すると, A 細胞はすべて内部に分布する毛細血管壁に接して存在する(図5). 対照群よりも A 細胞の数がかなり増加しているように思われる.

A 細胞は azan で橙赤色から濃赤色までの間の種々の色調を示す. 大きさも種々で, 特に島の内部に分布する A 細胞には小さい紡錘形の細胞が多い(図6). A 細胞の顆粒量は全体として中等度である. B 細胞には著明な数の減少がある(図4). その大きさには著明な変動があり, 普通の大きさの細胞もあるが, 大きい B 細胞がかなり多く存在する(図4, 5, 6). すなわち B 細胞の腫大があるものと考えられ

Fig. 4. A large islet from a 15 times alloxan injected rat. A large number of A cells (dark) are found not only in the periphery but also along the blood capillaries in the central parts of the islet (remarkable proliferation of A cells), while B cells (light) decrease in number. BOUIN, azan. $\times 480$.

B 細胞の 2 倍以上の値である. また前述の如く, 大きい B 細胞の細胞質は明調であるが, 屢々その周辺部や内部に大小の空胞を色々の数に持つ(図6). 高度の場合には所謂水泡変性を思わせる(図7). 小, 中 B 細胞の細胞質は明調なものや暗調なものがある. 中には細胞質も核も共に azocarmin で強染萎縮し, 濃縮変性したと思われる細胞も希れに見られた. AFLO 染色では orange G で黄染した

Table 2. Blood sugar level (mg%).

Animal number	Control group	Alloxan group	Hypophysectomized group
1	125.6	410.2	40.0
2	94.7	374.7	58.2
3	115.0	438.0	42.5
4	111.9	(105.1)*	49.9
5	98.2		(107.1)**

Blood sugar levels were measured with anthrone reagent. * and ** The same cases as in Table 1.

る. 巨大な B 細胞は終末部の外分泌細胞よりも大きく, 細胞質は明るく, 大なる円形核を持ち, 核小体も大きくて外分泌細胞の核小体を凌駕することがある(図6). 計測されたなかで最大のものは核の長径が 10.1μ , 細胞体の長径が 27.4μ に達した. これは対照群の

Fig. 5. A small portion of a large islet from a 15 times alloxan injected rat, showing characteristic localization of proliferated A cells (dark $\uparrow$) along the walls of the capillaries. Ring or loop-shaped canaliculi found beside nuclei of B cells are GOLGI-negatives. LEVI, azan. $\times 1,080$.

A細胞が島の全域に多数分布し、島細胞の半数以上がA細胞で占められている事もある。B細胞の aldehyde fuchsin による染色は著しく低下し、対照例の如く濃紫色に染まる B細胞は少なく散在性に見

出されるのみで、多くのB細胞は僅かに紫色にそまるのみである。これは β 顆粒の著しい減少によるものと思われる。大きいB細胞にも β 顆粒を多く持つものがあるが、一般に β 顆粒が少ないものが多い(図8)。

アロクサン14回給与後72時間で屠殺した1例では、15回給与例と同様A細胞の増加があるが、島の内部へ侵入する程度は弱く、中心部にまで達するA細胞は見られない。しかし周辺部のA細胞の層はたしかに厚くなっている。従ってB細

Fig. 6. A central part of a large islet from a 15 times alloxan injected rat. A number of large B cells (light) with large oval nuclei and nucleoli are found between the cords of small proliferated A cells (dark). BOUIN, azan. $\times 1,080$.

胞の数の減少は弱く、腫大し、また空胞のあるB細胞は殆んどない。AFLO 染色で見ると β 顆粒の減少も15回給与例より弱い。

アロクサン15回給与により銀好性 A_1 細胞は島の周辺部だけでなく、中央部にも証明され、対照群よりも明らかに増加している(図9)。 A_1 細胞の多い島では全域にわたって出現す

る。すなわちアロクサン給与により毛細血管に沿って島の内部にも出現するA細胞の中には A_1 細胞がかなり多いことを示している。全島細胞に対する A_1 細胞の出現率を算出したところ表3の結果を得た。平均16.4%に達し、対照群の約4倍である。 A_1 細胞の形は楕円形、紡錘形、星形など種々で、中等大のものが多く、対照群と略等しいが、小さいものも混ざる。核は円形ないし楕円形で、明るく、他の島細胞のものと区別し難い。細胞質の銀黒化の程度には変動がある。14回給与

Fig. 8. A portion of a large islet from a 15 times alloxan injected rat. Many enlarged B cells are poorly granulated (light), and well granulated ones are very few ($\uparrow$). BOUIN, AFLO. $\times 480$.

Fig. 7. A small portion of a large islet from a 15 times alloxan injected rat. A large B cell with intensely vacuolized cytoplasm (hydropic degeneration) is found in the left part of this photograph. β granulation (dark) of individual B cells is variable, but in general poor. LEVI, AFLO. $\times 1,080$.

後72時間後に屠殺した1例では A_1 細胞も少なく、出現率は6.9%であった。

対照群や下垂体剔除群では殆んど見られないが、アロクサン給与群のL島にはしばしばPAS染色によってグリコゲンを

Fig. 9. A medium-sized islet from a 15 times alloxan injected rat. Argyrophil A₁ cells (dark) increase in number and are found not only in the periphery but also in the central parts of the islet. BOUIN, silver impregnation after HELLMAN et al. $\times 480$.

ようなグリコゲン塊を持つ空胞は他の染色では明るい空胞として認められる。前述の如く水泡変性を思わせる空胞を多く持つB細胞はグリコゲン塊を持つB細胞である。すなわち所謂水泡変性はグリコゲン浸潤に他ならないことが立証される。グリコゲンを持つB細胞は一般に少なく、大島でも10個を数えることが出来る程度である。

持つB細胞が証明される。かかるB細胞は一般に島の中央部に多い。一般に大きい細胞で、グリコゲン量には差があり、細胞質が全体として弱く紅紫色にそまるものから、強く紅紫染するグリコゲン塊が大小空胞の周辺部に層をなして存在し、或は空胞全体を充たすこともある(図10)。しかし大きい腫大したB細胞でグリコゲンの証明されないものもある。この

Table 3. Numerical rate of argyrophil A₁ cell (%) (A₁ cells $\times 100$ /total islet cells). (Mean $\pm$ S. E.).

Control group	Alloxan group	Hypophysectomised group
4.4 $\pm$ 0.31	16.4 $\pm$ 1.67 (6.9 $\pm$ 0.78)*	9.6 $\pm$ 0.57 (8.7 $\pm$ 0.21)**

* and ** The same cases as in Table 1.

Fig. 10. A small portion of a large islet from a 15 times alloxan injected rat. Some of large B cells contain a large amount of glycogen (dark) (lower left). B B cells, C blood capillary. ZENKER-formol, PAS. $\times 1,080$.

C. 下垂体剔除群に於ける L 島の変化.

生後1ヶ月目に下垂体を剔除し、それより5ヶ月後まで生存したラットの体重は表1の如く対照群のほぼ $1/3$ であった. 血糖値は表2の如く対照群のほぼ $1/2$ の値を示した.

島には萎縮は認められない. また A, B 細胞の分布にも変化はなく, A 細胞は島の周辺部にのみに存在し, 内部にある B 細胞の集団を薄層をなして不連続性にとりまく (図 11). A, B 細胞の数にも変化はなく, A 細胞は対照群と比較すると azocarmine による染色性がやや強い傾向があり, α 顆粒の減少は認められず, 赤染した大きな

A 細胞もある. しかし中に A 細胞の萎縮がある島が見られた. 下垂体剔除による島細胞特に A 細胞の変化は全般的に著明でない. B 細胞の細胞質は azan 染色で橙黄色に染まる顆粒を少数に

Fig. 11. A medium-sized islet from a hypophysectomized rat sacrificed at five months after hypophysectomy. Atrophy of islet is not recognized. The same arrangement of A and B cells and same numerical rates of both cells as found in control rats; A cells (dark) are located in small number in thin peripheral layer and many B cells (light) occupy major inner parts of the islet. BOUIN, azan. $\times 480$.

もつことが多い. AFLO 染色で β 顆粒は紫色に染まり, 細胞によって顆粒量に多少の差はあるが, 対照群と比較すると全般的に B 細胞の染色は弱く, β 顆粒量は著明に減少している (図 12). しかしアロクサン群よりも多い.

銀好性 A_1 細胞はやはり周辺部の A 細胞の薄層と内部の B 細胞群の接触部に出現し (図 13), 対照群と似るが, 全島細胞に対する A_1 細胞の出現率はアロクサン群より小さいが, 対照群よりも大きく, 平均 9.6% の値を示した (表 3).

下垂体剔除群 5 例の中の 1 例において, 体重が他例よりもやや大であったが, 屠殺して下垂体をしらべたところ, 下垂体の位置に対照群の下垂体よりは小さい円い組織塊が認められた. 切片にし組織像を調べた結果, 後葉に似た組織とやや大きな中間部であることがわかった. 前葉組織は全く認められなかった. この 1 例の

Fig. 12. A medium-sized islet from a hypophysectomized rat. The quantity of β granules in B cells (dark) somewhat decreases, and the peripheral A cells have clear appearance. LEVI, AFLO. $\times 480$.

下垂体全剔除群と同様であるが、島の部に向かって少し入り込んだ位置に A 細胞がみられる島があった。A 細胞の顆粒量は細胞により異なるが、顆粒が多数濃染して細胞質がやや増大したのが多い傾向がみられる。B 細胞もその顆粒量に変動があり、多量の β 顆粒をもつものもあるけれども、下垂体全剔除群と同様に全般的には β 顆粒は減少している。下垂体を剔除して 1 ヶ月後に屠殺した 5 例では血糖値は測定しなかったが組織像は下垂体剔除後 5 ヶ月の例と殆んど変化がなかった。

Fig. 13. A medium-sized islet from a hypophysectomized rat. A few argyrophil A₁ cells (dark) appear between the peripheral A-cell layer and the central B-cell group as in control rats. BOUIN, silver impregnation after HELLMAN et al. $\times 480$.

III. 考 察

アロクサンを 1 回給与による島細胞の変化については種々の報告がある。Hughes, Ware と Young (1944), Bailey, Bailey と Hagen (1944) はアロクサン注射後 5 分で B 細胞の顆粒の減少と、核と細胞質の変化を認め、10—15 分で β 顆粒の著

体重は下垂体全剔除群と対照群の中間の値であったが(表 1), 血糖値は下垂体全剔除群が低血糖値を示したのに対して, この例では対照群と殆んど大差はなかった(表 2). 島の組織学的所見は全剔除群と変らない. A₁ 細胞の出現率は下垂体全剔除群とほぼ同様の値を示し(8.7%), 対照群に比較するとほぼ 2 倍であった. A 細胞が島の周辺部に局限してみられることは対照群や下

明な減少とB細胞の萎縮, 毛細血管周囲腔の拡張を見た. これに対し Hause, Nace と Tassoni (1956) はハムスターでアロクサン給与後5分以内に β 顆粒が増加し, 約40分でその頂点に達すると主張した. また Volk と Lazarus (1962), Lazarus, Barden と Bradshaw (1962) は家兎で最初に現われる変化はB細胞の萎縮と毛細血管周囲腔の拡張であるが, β 顆粒の増減は明らかでないと述べた. Duff (1945), Lukens (1948), Volk と Lazarus (1962), Lazarus, Barden と Bradshaw (1962) 等は次の様な点では一致している. すなわち, アロクサン給与後1時間でB細胞の萎縮と核の濃縮が現われ, 細胞境界は幾分不明瞭となり, 細胞質には中等度の空胞化がある. 3時間後ではB細胞の細胞質は均質性, 好エオジン性で, 形は円形となる. 時間の経過とともにこの様な変化は進行して, 8時間で核濃縮は極めて顕著で, 核はヘマトキシリンよりも酸性色素で染まるようになる. 細胞質は泡沫様で境界が不明瞭となる. この頃から核膜と細胞膜が漸次消失する. 16時間以後では核の破砕するものが増加し, 細胞が融合して細胞質の崩壊がおこる. 20—24時間でB細胞は殆んど碎片となり, 島の中央には時に壊死性細胞が認められる (Lazarus と Volk 1962 参照). この様に唯1回のアロクサン給与で, しかも24時間或はそれ以内にB細胞が殆んど崩壊するという報告が多くなされているが, 本研究では1ヶ月間のアロクサン給与にもかかわらず, その様な著明なB細胞の変性像はみられなかった. 三宅 (1960) はアロクサン 200 mg/kg の給与によって, 高血糖を起さしめ, 48時間後には CHP 染色でB細胞のCH-好性杆状体は殆んど消失したが, B細胞の変性崩壊像は認められないと述べている. Williamson と Lacy (1959) はアロクサン給与による島細胞の変化を電顕で究明し, 給与後15分で β 顆粒が7倍の増加を示し, 15—30分では顆粒は著明な減少を示し, 通常 β 顆粒をとりまく membranous sacs が細胞質内に多数空胞として残ることをみた. Shipley と Rannefeld (1945) はラットに1日アロクサン 25 mg/kg 或はそれ以下を2ヶ月間続けて給与して, β 顆粒の異常をみたが, 他の変化は現われないと報告した. 吾々はラットに隔日にアロクサン 150 mg/kg を給与し, 1ヶ月間15回に及んだ時の島の変化を見たのであるが, B細胞の変化としては, その数の著明な減少, 腫大化, β 顆粒量の著明な減少を挙げることが出来る. 濃縮変性したB細胞は希れに見られたのみである. 恐らく吾々の観察した時期には既にB細胞の変性死滅が起こって, B細胞は減少し, B細胞の代償性肥大と機能昂進が招来されているのではないと思われる. B細胞には大きいものが多く, 核も核小体もそれに応じて増大している. その最も大きい巨大なB細胞は細胞体の長径が 27.4μ , 核の長径が 10.1μ に達した. これ等の大きいB細胞は恐らく機能も昂進し, insulin の産生が旺盛であろうことは核小体の増大が顕著であることから想像される. Ferner (1952) が 'Inseladenom' の機能昂進を伴う巨大B細胞, すなわちBB細胞と名づけたものに類似する. β 顆粒量の減少には2つの解釈があると思われる. 第1は機能抑制による減少, 第2は産生に伴う旺盛な細胞外放出所謂

脱顆粒 (degranulation) があるための減少である。恐らくここでは後者があてはまるのではないと思われる。

Toreson (1951), Wrenshall, Hartroft と Best (1954), Lazarus と Volk (1958) 等は人の糖尿病, 及び実験的糖尿病でおこる B 細胞の水泡変性 (hydropic degeneration) はグリコゲン浸潤によるものであるとの説を唱えた。狩野 (1961, 1962) はインガメの島で生理的にもこの説が正しいことを立証した。吾々は本実験で長期アロクサン給与ラットにて腫大した B 細胞の中に空胞を持つものがあり, その高度の場合には所謂水泡変性を思わせる像を示すのを認めたが, PAS 法によってグリコゲンを検出することにより, 空胞はグリコゲン沈着に由来することを確かめた。すなわちラットにても B 細胞の水泡変性を思わせる変化はグリコゲン沈着によることが証明されたのである。本実験においてアロクサンを隔日に 15 回, 1 ヶ月に亘って給与したラットで, 血糖値は正常ラットの 3—4 倍であったが, 上記のような B 細胞の代償性肥大と機能昂進にもかかわらず, 血糖値を正常に保つことが出来なかったことを示している。

次に長期アロクサン給与ラットにおける A 細胞の変化について論ずる。Ferner (1952), 吉村 (1958) 等の述べる如く, ラットの島にては, 島の内部の大部は B 細胞群で占められ, A 細胞はこれを取りまいて周辺部に限局して不完全な薄層をなして分布する。また A 細胞は B 細胞に比して遙かに少なく, Gróbéty (1947) によれば A 細胞 18% に対して B 細胞は 82% である。また Ferner (1952) の計測によれば 23% 対 77% である。吾々は対照ラットの L 島の観察において全く同じ所見を得た。吾々は長期アロクサン給与実験で A 細胞が島の周辺部のみでなく, 中央部にまで索を作って侵入しているのを認めた。これは A 細胞が島内に分布する毛細血管に沿い連続した列を作って存在するためである。そして明らかに A 細胞の増加がある。時には A 細胞が数的に B 細胞を凌駕するように見える。このような変化はここに吾々により初めて報告されると思われる。この場合の A 細胞自体には対照例と比較して特別な変化はなく, 顆粒量も中等量である。A 細胞の増殖とその島内部への侵入が如何なる原因によって招来されたかは明らかでないが, 減少した B 細胞の占める場所を充填するためか, 或はアロクサン給与が A 細胞の増殖を惹起したものであるか, この研究のみでは解答は得られない。B 細胞が A 細胞に転化することを暗示する所見は見出されなかった。また A 細胞の分裂像にも接しなかった。A 細胞の増加により glucagon の分泌量は増加し, 血糖値の上昇を強めることは考えられることである。アロクサン 14 回投与後 72 時間で屠殺した 1 例では体重も正常に近く, 血糖値も対照群とほぼ同じ値を示したが, その島所見を見ると, A 細胞の増殖はあるが, 15 回給与例より弱く, 内部へ侵入する所見はあるが, 中央部にまで達せず, その部は B 細胞で占められ, 従って B 細胞の減少は弱く, 腫大や空胞化は殆んどなく, β 顆粒量も 15 回給与例より多い。恐らく最終給与後の 72 時間の間にアロクサンによる島の変化が恢復し, 軽減したもの

と思われ、それに対応して血糖値がほぼ正常値にかえたものと想像される。

下垂体の抽出物或は成長ホルモンを動物に与えると、高血糖が生ずる事は以前から知られている。また脾臓を剔除し高血糖になった動物の下垂体を剔除すると血糖値は正常になり、脾臓だけではあまり長く生存しないが、下垂体を剔除すると更に長期間生存させることが出来るという報告もある (Lazarus と Volk 1962 参照)。下垂体の成長ホルモンに血糖上昇作用があり、部分的な脾臓を行なった動物に作用させると、更にその効果が増すといわれる (Houssay と Anderson 1949, Campbell, Davidson と Lei 1950, Lazarus と Volk 1958, Houssay 1959), Richardson と Young (1938), Richardson (1940) は前葉抽出物を給与した場合の初期の変化として、L 島の B 細胞の 1 部或は完全な脱顆粒、個々の B 細胞の水泡変性、島細胞の有糸分裂像、小葉内導管上皮の空胞化等を観察した。また Ham と Haist (1941) は前葉抽出物を毎日皮下注射して 7 日後、B 細胞の脱顆粒を見、水泡変性が著明になる前に島細胞に有糸分裂像を見たが、注射を中止して 4 日後には B 細胞の脱顆粒は完全に回復し、水泡変性も最後の注射より 3 日で回復していたと報告している。長期間の前葉抽出物の給与で恒久的糖尿病になった犬では殆んど L 島はみられず、存在しても小さく、島細胞は萎縮し、萎縮した核をもっていたという Dohan と Lukens (1939) の報告もある。更に 80 % の部分脾臓を行なった犬に 21 日間成長ホルモンを給与すると、L 島は発見し難く、たまたま残存した島は大抵 A と D 細胞からなることが示された (Lazarus と Volk 1962)。以上の如く下垂体抽出物または成長ホルモンが直接か間接的に L 島の B 細胞に退行的な作用を及ぼすという報告は多数なされているにもかかわらず、下垂体剔除時の L 島について論じた報告は極めて少ない。唯、Miller と Wurster (1958) はトカゲ (*Eumeces obsoletus*) で下垂体を剔除すると血糖値が低下する事を報告し、その時 A 細胞と B 細胞にわずかではあるが脱顆粒のあることを述べた。なお Salamander でも下垂体剔除が低血糖、B 細胞の脱顆粒と島の萎縮をおこすことが報告された (Wurster と Miller 1960)。また Mosca (1957) は成熟ラットの下垂体剔除後、体重の減少をみたが、L 島の A:B 比には変化を認めなかった。更に幼若ラットで下垂体を剔除すると、成長速度は低下するが、体重に対する L 島数の出現率は高くなることを観察している。

吾々は生後 1 ケ月で下垂体を剔除し、その後 5 ケ月を経たラットにて、体重の著明な減少と血糖値の低下 (対照例の約 $1/2$) を認めた。しかし組織学的には L 島に著明な変化を認めなかった。すなわち L 島には萎縮はなく、A, B 細胞の分布配列状態は正常で、A:B 比にも変化はなく、A, B 細胞に変化はなかった。A 細胞の顆粒量にも認むべき変化はなかったが、B 細胞の顆粒量はアロクサン給与群ほどではないが、対照群に比して可なり少ない。すなわち脱顆粒がある。下垂体剔除群において血糖値の低下を招来する原因としては、下垂体からの血糖上昇因子がなくなるためであるか、A 細胞の機能低下によるか、或は B 細胞の機能昂進

(脱顆粒)に由来するか決定的な裁断は下しがたい。ところで下垂体剔除群の中で前葉のみが剔除され、後葉と中間部が残存した1例では血糖値の低下がなく、対照群とほぼ等しい値を示し、体重の減少も軽度であった。これによって見ると後葉或は中間部にも血糖調節の因子が存在しているとの想像も可能であるが、1例のみであるので、今後には問題は残される。

Hellman 等は彼等の鍍銀法によって A 細胞を銀好性の A_1 細胞と銀好性でない A_2 細胞に分類し、glucagon 産生細胞は A_2 細胞であるとした。 A_1 細胞の意義についてはなお明らかでないが、種々の動物でその存在が確かめられている (Hellman 1961 a, Hellman 1961 b, Hellman, Wallgren と Hellerström 1962, Hellman と Hellerström 1960, 1962, 小林 1963)。また、Hellman と Petersson (1963) は長期間のアロクサン給与ラットで A_1 細胞が増加する事を報告した。

吾々は先ず対照群ラットで A_1 細胞を検出したところ、 A_1 細胞は L 島の内部を占める B 細胞群と、それをとり囲んで 1—3 列に並ぶ A 細胞層との接触面に散在性に出現し、その全島細胞に対する出現率は 4.4% であった。アロクサン 15 回給与のラットにおいて A 細胞の増殖と、島の内部へ分布する所見を得、かつ A_1 細胞の増加を認めた。そして全島細胞に対する A_1 細胞の出現率は 16.4 % という対照群の約 4 倍にあたる高い値を示した。アロクサン給与群では A_1 細胞が島の内部にも多数証明されたが、これは増殖し島の内部に侵入した A 細胞の中に多数の A_1 細胞があることを示している。アロクサン 14 回給与後 72 時間で屠殺した 1 例では A 細胞の増殖が弱い、 A_1 細胞も 15 回給与群より少ない (6.9%)。これは恐らく給与後 72 時間の間に A 細胞の減少に伴い、 A_1 細胞も減少したためである。

A_1 細胞は下垂体剔除群では対照群と同様島の周辺部にある A 細胞層に接してその内側に散在し、出現率はアロクサン給与群には及ばないが、対照群よりも明らかに高い値を示した (9.6%)。Hellman 等は glucagon の産生細胞は銀好性でない A_2 細胞で、 A_1 細胞は glucagon 産生に与らない他の意味を持つ細胞としているが、Petersson と Hellman (1963) は長期間 glucagon をラットとモルモットに給与して、ラットでは $A_1:A_2$ 比が 0.24 から 0.32 に増加し、モルモットでは 0.36 から 2.12 に増加するという成績を得た。吾々の実験でアロクサン長期給与により血糖値の上昇と A 細胞の増殖がおこったが、増殖した A 細胞の中に glucagon を産生しない A_1 細胞が多いことは興味ある所見である。また下垂体剔除ラットでは血糖値の下降があるが、 A_1 細胞の増加が証明されたことは検討する価値のある所見である。

IV. 総 括.

香龍系雄ラットを用い長期アロクサン給与と下垂体剔除が脾臓の Langerhans 氏島に及ぼす影響について組織学的、細胞学的に調べ、次の結果を得た。

1. 正常ラット(対照群)のL島は円形ないし楕円形で、種々の大きさを示すが、いずれにおいても内部へ少量の結合組織を伴った毛細血管が侵入する。島細胞の大多数はB細胞で、中央大部を占め、A細胞は少数で島の周辺部に限局して1—3列の不完全な薄層をなして存在する。

2. 体重1kgあたり150mgのアロクサンを隔日に皮下注射によって15回給与し、24時間後に屠殺したラットでは、血糖値が対照群のはぼ4倍の値を示した。組織学的にはA細胞の著明な増殖があり、毛細血管に沿って島の中心部にまで索状に分布する。B細胞は明らかに減少し、腫大したものが多く、屢々巨大なB細胞に接する。 β 顆粒の減少は著明で、所謂強い脱顆粒がある。腫大したB細胞には屢々細胞質の空胞化があり、高度の場合には所謂水泡変性を思わせる像を示す。これはB細胞のグリコゲン浸潤に由来することが証明された。アロクサン14回給与後72時間で屠殺した1例では、血糖値は対照群とはぼ等しく、A細胞の増殖は軽度で、毛細血管に沿い内部へ侵入する傾向はあるが、島の中心部にまで達することはない。B細胞の減少は弱く、腫大、空胞化は殆んどない。 β 顆粒の減少も15回給与群より弱い。

3. 生後1ヶ月で下垂体を剔除し、5ヶ月後にしらべた群の体重は対照群のはぼ $\frac{1}{3}$ で、血糖値ははぼ $\frac{1}{2}$ の値を示した。島に萎縮は認められず、A、B細胞の大きさ、数、分布も対照群と変わらない。下垂体剔除による島の形態学的変化特にA細胞の変化は著明でない。ただ β 顆粒の認むべき減少があるが、アロクサン群ほど高度ではない。下垂体剔除群の中の前葉のみ剔除された1例では体重の減少は軽度で、血糖値ははぼ正常であった。組織学的には全剔除群と殆んど差はない。

4. Hellman等の所謂銀好性A₁細胞は対照群と下垂体剔除群では周辺部のA細胞層と内部のB細胞群との接触部に散在性に証明され、全島細胞に対する出現率は対照群では4.4%、下垂体剔除群では約2倍に増加して9.6%(前葉剔除例では8.7%)であった。アロクサン給与群では増殖して島の内部に侵入したA細胞の中にも証明され、15回給与群では16.4%で約4倍に増加した(14回給与例では6.9%)。

稿を終るにのぞみ、終始変らぬご指導とご校閲をいただいた伊東俊夫教授に心より感謝致します。またこの実験に際しご助力をいただいた帝国臓器、生研部の方々にお礼申し上げます。

Author's Abstract.

The effects of the long term alloxan administration and hypophysectomy on the pancreatic islets of the male rat (Donryu strain) were studied biochemically and cytologically. For the fixation LEVI's, BOUIN's fluid and ZENKER-formol were used and 3—4 μ thick paraffin sections were stained with azan aldehyde-fuchsin-light green-orange G(AFLO) and chromealum-hematoxylin-phloxin(CHP) and by the periodic

acid-SCHIFF reaction (PAS) for the demonstration of glycogen in the islet cells. The argyrophil A₁ cells were demonstrated by the silver-impregnation method after HELLMAN et al. (1960). The results were as follows:

1. The islets of normal rats (5 control rats) were oval or spherical in shape and showed various sizes. Many capillaries surrounded by a small amount of connective tissue entered the innermost part of each islet. In the normal rats the islet cells chiefly consisted of B cells; a large number of B cells occupied the major internal part of the islet, while a small number of A cells were localized only at the peripheral parts of them making one to three incomplete thin layers.

2. To three male rats 150 mg/kg alloxan was given subcutaneously every other day for one month (15 times). Blood sugar level measured with anthrone reagent at 24 hours after the last injection was about four times high as that of control group. Histologically there was found remarkable increase in A cells, distributed not only in the periphery of the islet but also along the walls of the capillaries even in the center of the islet. On the contrary B cells decreased in number, though there were many large, sometimes extraordinary large B cells among remaining ones. In all B cells intense decrease in β granules was demonstrated (high degranuration of B cells). In some swollen and enlarged B cells the vacuolization of cytoplasm was encountered, and in severe cases they appeared as if they had fallen into so called 'hydropic degeneration'. It was proved that the vacuolization (hydropic degeneration) of B cells was derived from the glycogen infiltration of B cells.

In one case sacrificed at 72 hours after 14 times alloxan injections the blood sugar level was about the same as in the control animals, but A cells were slightly increased, having a tendency to enter along the capillaries into the internal parts of islets. B cells were slightly decreased and their enlargement and vacuolization were scarcely found. Decrease in β granules was also slighter than in the 15 times alloxan injected group.

3. In the second experiment one month old male rats were hypophysectomized and sacrificed five months later. Their body weights became about one third, and blood sugar level about one half those of the control rats. Histologically atrophy of islets was not recognized. Size, number and distribution of A and B cells were revealed almost as normal. Any marked morphological changes of islets, especially of A cells due to hypophysectomy, were not observed. The considerable decrease in β granules was observed, but not so remarkably as in alloxan groups.

In one of hypophysectomized rats, necropsy disclosed that only adeno-hypophysis was removed. In this case decrease in body weight was slight, and the almost normal blood sugar level was maintained, but histological changes were similar to those in the perfectly hypophysectomized group.

4. HELLMAN's argyrophil A₁ cells both in control and hypophysectomized group appeared in a small number scatteringly between the peripheral A-cell layer and the central B-cell group. The numerical rate of A₁ cells to the total islet cells was 4.4% in control group. It showed about 2 times increase and reached 9.6% in hypophysectomized group (8.7% in adeno-hypophysectomized one). In alloxan group A₁ cells were found in the largest number among the remarkably proliferated A cells which had invaded along the capillaries into the central parts of islet. In alloxan rats

which had received 15 alloxan injections the numerical rate of A_1 cells to the total islet cells reached 16.4% and showed about 4 times increase over that of control rats (the rate was 6.9% in one case which had received 14 alloxan injections).

文 献.

- Bailey, O. T., C. C. Bailey and W. H. Hagen**: Alloxan diabetes in rabbit: Consideration of morphologic and physiologic changes. *Amer. J. m. Sci.* 208 (1944). P. 450-461. — **Campbell, J., I. W. F. Davidson and H. P. Lei**: The production of permanent diabetes by highly purified growth hormone. *Endocrinol.* 46 (1950). P. 588-590. — **Dohan, F. C. and F. D. W. Lukens**: Persistent diabetes following injection of anterior pituitary extract. *Amer. J. Physiol.* 125 (1939). P. 188-195. — **Duff, G. L.**: The pathology of the pancreas in experimental diabetes mellitus. *Amer. J. med. Sci.* 210 (1945). P. 381-397. — **Ferner, H.**: Das Inselsystem des Pankreas. 1952. — **Grobéty, J.**: Veränderungen des Zellbildes der Langerhansschen Inseln unter dem Einfluß von Alloxan. *Acta anat.* 3 (1947). S. 194-208. — **Ham, A. W. and R. E. Haist**: Histological study of trophic effects of diabetogenic anterior pituitary extracts and their relation to the pathogenesis of diabetes. *Amer. J. Path.* 17 (1941). P. 787-812. — **Hause, E. L., P. F. Nace and J. P. Tassoni**: Alloxan diabetes in the hamster: Organ changes during the first day. *Endocrinol.* 59 (1956). P. 433-443. — **Hellman, B.**: The occurrence of argyrophil cells in the islets of Langerhans of American obese-hyperglycaemic mice. *Acta endocrin.* 36 (1961 a). P. 596-602. — Nuclear differences between the argyrophil (A_1) and nonargyrophil (A_2) pancreatic A cells in the duck. *Acta endocrin.* 36 (1961 b). P. 603-608. — **Hellman, B. and C. Hellerström**: The islets of Langerhans in ducks and chickens with special reference to argyrophile reaction. *Z. Zellforsch.* 52 (1960). P. 278-290. — Cellular composition of the islets of Langerhans in the bullfrog, *Rana catesbiana*. *Acta anat.* 48 (1962). P. 149-155. — **Hellman, B., A. Wallgren and C. Hellerström**: Two types of islets cells in different parts of the pancreas of the dog. *Nature* 194 (1962). P. 1201-1202. — **Hellman, B. and B. Petersson**: Long-term changes of the α_1 and α_2 cells in the islets of Langerhans of rats with alloxan diabetes. *Endocrinol.* 72(1963). P. 238-242. — **Houssay, B. A.**: Comparative physiology of the endocrine pancreas. (Ed. by) Gorbman: Comparative Endocrinology. New York, John Wiley, 1959. P. 639-667. — **Houssay, B. A. and E. Anderson**: Diabetogenic action of purified anterior pituitary hormones. *Endocrinol.* 45 (1949). P. 627-629. — **Hughes, H., L. L. Ware and F. G. Young**: Diabetogenic action of alloxan. *Lancet* 245 (1944). P. 148-150. — **伊東俊夫, 高橋嘉幸, 馬原嘉彦**: 成人の膵臓に於けるランゲルハンス氏島と島外島細胞の研究. 日組録. 22 (1961). 頁 53-76. — **狩野和夫**: イシガメの Langerhans 氏島の組織学的, 細胞学的並びに電子顕微鏡的研究. 日組録. 22 (1961). 頁 123-180. — イシガメの Langerhans 島の実験細胞学的研究. 日組録. 23 (1962). 頁 153-163. — **小林寛**: ヒキガエル (*Bufo vulgaris formosus*) の膵臓における Langerhans 氏島の組織学的, 細胞学的研究. 日組録. 24 (1963). 頁 41-76. — **Lazarus, S. S. and B. W. Volk**: Glycogen infiltration (hydropic degeneration) in the pancreas. A review. *Arch. Path.* 66 (1958). P. 59-71. — The pancreas in human and experimental diabetes. 1962. — **Lazarus, S. S., H. Barden and M. Bradshaw**: Pancreatic beta cells and alloxan toxicity. *Arch. Path.* 73 (1962). P. 210-222. — **Lukens, F. D. W.**: Alloxan diabetes. *Physiol. Rev.* 28 (1948). P. 304-330. — **Miller, M. R. and D. H. Wurster**: Further studies on the blood glucose and pancreatic islets of lizards. *Endocrinology*, 63 (1958). P. 191-200. — **三宅寿夫**: Alloxan, Dithizone, Oxine 糖尿病に於けるラ氏島の損傷像に対する疑義. 日内分泌誌. 35 (1960). 頁 1319—1336. — **Mosca, L.**: Anterior pituitary and morphology of the pancreatic islets in the rat. *Quart. J. exper. Physiol.* 42 (1957). P. 267-278. — **Petersson, B. and B. Hellman**: Effects of long term administration of glucagon on the pancreatic islet tissue of rats and guinea pigs. *Acta endocrinol.* 44 (1963). P. 139-149. — **Richard-**

son, K. C.: The influence of diabetogenic anterior pituitary extracts on the islets of Langerhans in dogs. *Proc. roy. Soc. London. Ser. B.* 128 (1940). P. 153-169. — **Richardson, K. C. and F. G. Young:** Histology of diabetes induced in dogs by injection of anterior pituitary extracts. *Lancet* 235 (1938). P. 1098-1101. — **Shipley, E. G. and A. N. Rannefeld:** Glucose tolerance in rats following repeated small doses of alloxan. *Endocrinol.* 37 (1945). P. 313-321. — 白寄 暹, 奥寺 郁三, 佐藤 量: ナマズ脳の糖質について. *医学と生物学.* 46 (1958). 頁 27-30. — **Toreson, W. E.:** Glycogen infiltration (so-called hydropic degeneration) in the pancreas in human and experimental diabetes mellitus. *Amer. J. Path.* 27 (1951). P. 327-347. — **Volk, B. W. and S. S. Lazarus:** Protection by cortisone pretreatment against alloxan diabetes. *Arch. Path.* 73 (1962). P. 363-370. — **Williamson, J. R. and P. E. Lacy:** Electron microscopy of islet cells in alloxan-treated rabbits. *Arch. Path.* 67 (1959). P. 102-109. — **Wrenshall, G. A., W. S. Hartroft and C. H. Best:** Insulin extractable from the pancreas and islet cell histology. *Diabetes* 3 (1954). P. 444-452. — **Wurster, D. H. and M. R. Miller:** Studies on the blood glucose and pancreatic islets of the salamander, *Taricha torosa*. *Comparative biochemical physiology.* Vol. 1. 1960. P. 101-109. — 吉村不二夫: 膵臓内分泌の形態学. *膵臓と内分泌.* 1958. 頁 9—170.