

ウシの膵島の微小循環と A および B 細胞の 細胞分布との関係について

平塚 貴浩・阿部 光雄・岩佐 憲二
平賀 武夫・竹花 一成

The Relationship between Microcirculation and A and B Cells Distributions in Pancreatic Islets of Cattle

Takahiro HIRATSUKA, Mitsuo ABE, Kenji IWASA,
Takeo HIRAGA and Kazushige TAKEHANA
(June, 1993)

緒 論

膵臓は外分泌腺の中に内分泌腺が混在する特殊な器官である。Wharton²⁵⁾ はウサギの膵島が1本の輸入血管を受け、数本の輸出血管を膵外分泌部の毛細血管に与えていることを報告した。Fujita³⁾ はウマで膵島から流出する血管が膵外分泌部を灌流する事実を報告し、膵島の洞様毛細血管（第一次毛細血管網）は膵島から流出する血管によりホルモンを血流によって膵外分泌部（第二次毛細血管網）へ運び、そのホルモンが外分泌部に何らかの作用をおよぼして、膵液や消化酵素の分泌調節にあずかるという考えを示して、この関係を「膵島—腺房門脈」と総称することを提唱した。この第一次毛細血管網と第二次毛細血管網とを結ぶ連絡路は墨汁注入法³⁾ および樹脂注入法¹⁷⁾ により明らかにされている。現在ではこの血管の連絡路はウマ³⁾、サル^{4,6)}、イヌ^{8,20)}、ラット^{4,8,11,15,16,20,21)}、ウサギ^{4,7,8,11,20,21)}、ヒヒ¹¹⁾、ネコ²²⁾、マウス¹¹⁾、モルモット¹¹⁾、ヒト¹⁸⁾ およびヘビ²³⁾ などの動物で報告されている。他方、膵島を構成する細胞群が血液の流れに沿ってある程度順序だてて位置していることも報告されている。すなわち、膵島の輸入血管の位置には A (glucagon) と D (somatostatin) 細胞が、「膵島—腺房門脈」つまり輸出血管の位置には B (insulin) 細胞が存在しているとも報告されている^{3,4,6-8,15,16,18,20,21)}。そして生理学的にも glucagon や somatostatin が in-

sulin 放出をそれぞれ促進および抑制し¹⁹⁾、ラットでは insulin が cholecystokinin・pancreozymin (CCK・PZ) の効果を増強する作用があることも知られている^{12,13)}。もちろん膵島の洞様毛細血管網から「膵島—腺房門脈」のほか、直接小葉間静脈に帰流する導出静脈を持つ膵島もラットおよびウサギ^{20,21)} で報告されている。

一方、これらの過去の多くの報告の中に反芻類での膵島内微小循環と細胞分布との関係に関する報告は少ない²⁴⁾。そこで、今回はウシの膵臓の血管系、特に膵島周辺の微小循環系の走行を明らかにするため、樹脂（メルコックス）注入による鋳型標本を走査電子顕微鏡で、墨汁注入による透明標本を実体顕微鏡で観察した。また、膵島内の細胞分布を知るために特に A (glucagon) および B (insulin) 細胞に対する抗血清を用い、Avidin-biotin-peroxidase complex method (以後、ABC 法と略す) を施し光学顕微鏡にて観察した。

材料および方法

材料はホルスタイン種の成ウシ6頭、子ウシ6頭の膵臓を用いた。

鋳型標本作製のためには放血殺後、直ちに肝動脈または前腸間膜動脈より血液を十分に灌流洗浄したのち、鋳型標本作製用注入剤を注入した。注入剤はメルコックス CL-2R または CL-2B (以後、メルコックスと略す) を用い、モノマーとしてメタクリル酸メチルを用いた。メ

ルコックスとモノマーは注入の直前に混合し、十分に注入し樹脂が完全に硬化したのちに、膵臓の膵左葉の一部を取り出し、10%水酸化ナトリウム水溶液中に浸し60°Cの恒温器で組織を腐食させた。そののち、流水中で一晩静かに水洗したのち、必要な部分を取り出し乾燥させた。鋳型標本は、Eiko IB-3 ION COATER (エイコー・エンジニアリング) により金をコーティングした後、HHS-2R型走査電子顕微鏡 (日立製作所) にて観察した。

透明標本作製のためには肝動脈より直ちに墨汁を十分に注入した。墨汁注入後、組織は10%ホルマリンで約2週間固定後細切し、流水中で一晩水洗し、アルコールにて脱水し、サリチル酸メチルで透徹し、実体顕微鏡 (WILD・M 650型) にて観察した。

光顕標本は成ウシの膵臓を用いた。ブアン液で固定後、膵左葉、膵体および膵右葉の一部を採材し、常法に従い10 μ m 厚のパラフィン連続切片を作製し、AおよびB細胞に対する抗血清を用い、ABC法を施して光学顕微鏡 (以後、光顕と略す) にて観察した。

結 果

膵臓の小葉における血管系は大部分が網目状に走る鋳型の径8 μ m 程度の毛細血管であるが、所々で腎臓の糸球体様の構築を示す径12 μ m 程度の太い毛細血管が認められた。前者は外分泌部の毛細血管で、後者は膵島 (Fig. 1) を構成するものであった。膵島を構成する毛細血管叢は色々な大きさのものが観察されたが、大きいもので150×140 μ m (Fig. 1)、小さいもので85×75 μ m (Fig. 2)、100×90 μ m (Fig. 3) であった。小葉内動脈から膵島内に入る血管は膵島の周辺部で二分し膵島を取り囲むように走行し、それから膵島内に枝を出し膵島の周辺部の少し内側から「膵島—腺房門脈」を通して膵島から外へ放散し、外分泌部へ走行していた (Figs. 1-3)。また、小葉の辺縁に存在する膵島では膵島から直接小葉間静脈に出る導出静脈も観察された (Fig. 4)。しかし、小葉の中心部に位置する膵島には導出静脈は観察されなかった (Fig. 1)。

細胞の分布について述べると、膵体では主に glucagon 免疫活性細胞 (以下、glucagon 細胞と略す) は膵島内の周辺部に、insulin 免疫活性細胞 (以下、insulin 細胞と略す) は膵島の中心部で観察された (Fig. 5 A, B)。膵左葉では膵体のように膵島の全周ではなかったが、glucagon 細胞は膵島内の周辺部で観察された (Fig. 6 A)。また、insulin 細胞は膵体と同様、膵島の中心部で観察された (Fig. 6 B)。膵右葉では glucagon 細胞は大部分の膵島

で全く観察されず (Fig. 7 A)、insulin 細胞のみしか観察されなかった (Fig. 7 B)。

考 察

小葉内の血管系で1973年に Fujita が膵島と腺房との間の血管の連絡路を「膵島—腺房門脈」と報告して以来、多種の動物でその存在は明らかにされている^{3,4,6-8,11,15,16,18,20-23,25}。今回の研究からウシにおいても「膵島—腺房門脈」は明らかに認められた。この膵島内への血管が入る位置と「膵島—腺房門脈」が出る位置については既に3つに大別されている^{3,4,6-8,9,15,16,18,20,21}。すなわち、ラット^{4,8,15,16,20,21} およびウサギ^{4,7,8,20,21} で認められる小葉内動脈が分枝しながら膵島を取り囲むように走り、膵島内へ枝を送り、「膵島—腺房門脈」が比較的深い位置の洞様毛細血管から外へ出るもの (I型)。ウマ^{3,4} およびサル^{4,6} で認められる小葉内動脈が膵島内の中心部に直達し、その後周辺部への洞様毛細血管網を形成し、「膵島—腺房門脈」が膵島の周辺部から出ていくもの (II型)。ヒト¹⁸、イヌ^{8,20} およびモルモット²¹ で認められる小葉内動脈が膵島の中間層の部分に入ってから毛細血管網となるとされているもの (III型) である。これらの相違は膵島内の細胞の分布位置による違いと考えられており、I型ではA、D細胞が膵島の周辺部に、B細胞が中心部に位置し^{1,4,7,8,15,16,20,21}、II型ではA、D細胞が膵島の中心部に、B細胞が周辺部に位置する^{3,4,6,9}。またIII型ではA、BおよびD細胞が膵島内で特定の分布を示さず、混じり合っていると報告されている^{8,18,20}。このように膵島内での血液の流れは glucagon を分泌するA細胞、somatostatin を分泌するD細胞の領域から insulin を分泌するB細胞の領域に流れることを示唆しており、glucagon や somatostatin が insulin 分泌を調節するためのホルモンであるという報告がある^{3,4}。近年、生理学的実験により膵島のB細胞から分泌される insulin が膵外分泌部の機能を調節し、insulin が膵腺房細胞に作用するCCK・PZの働きを著しく強化、持続させることがラットですでに明らかにされている^{12,13}。またイヌにおいても、膵島内の毛細血管周囲腔で終止する神経が多く⁵、その神経分泌物質が膵島内のホルモンと共に「膵島—腺房門脈」によって、外分泌部へと高濃度で運ばれ、その機能を調節しているのではないかという報告もある⁵。ウシにおける膵島内微小血管循環は過去の報告でのI型に相当した。

免疫組織化学的にウシの膵左葉および膵体における膵島内のA細胞とB細胞との位置関係は主にA細胞が周辺部で、B細胞が中心部で観察された。また今回明らか

に出来なかった D 細胞は A 細胞とほぼ同様膵島の周辺部に存在すると報告されている^{2,10)}。今回観察したウシにおいても過去の報告^{3,4,6-8,15,16,18,20,21)}と同様、膵島内に入る動脈(輸入動脈)の位置には A および D 細胞が多く、「膵島—腺房門脈」の出る位置には B 細胞が多いことになり、glucagon および somatostatin が insulin 分泌を調節する何らかの機構があるのではないかということが推察できた。

膵臓の各葉における膵島の構成細胞の違いはすでにラット¹⁾ およびウマ⁹⁾などで報告されている。このような動物種の膵島、特に十二指腸に近い部分の膵島では A 細胞の代わりに PP (pancreatic polypeptide) 細胞が多いとされている^{1,9)}。膵右葉の膵島では A 細胞はほとんど認められず、B 細胞が主に認められた。ウシでも過去の報告と同様、PP 細胞が多い膵島が存在することが推察されるため、このような膵島の微小血管循環を明らかにする必要があると考える。また、ウマに関しては腺房へ入る小葉内動脈はほとんどなく、最初に膵島を介してその後で腺房へと入ると報告されている³⁾。一方、ラットおよびウサギでは膵島に入る小葉内動脈は 10~20% で、残りの 80~90% の小葉内動脈は腺房に入ると報告されている^{20,21)}。今回、観察したウシについては何%の小葉内動脈が膵島に入るかということを明らかにすることは出来なかったが、ウマよりむしろラットおよびウサギに近いものであった。

ラットおよびウサギでは血液が膵島から「膵島—腺房門脈」を通して膵島周辺の外分泌部へと流れることがすでに報告されており²¹⁾、Miyake らも不完全な樹脂注入下で外分泌部よりも膵島に樹脂が入っていることを報告した¹⁵⁾。ウシにおいても血液は膵島から「膵島—腺房門脈」を通して外分泌部へと流れることが示唆された。

膵島より直接、静脈系に帰流する導出静脈はラットやマウスに多く、ウサギ、イヌ、ネコなどではまれである^{20,21)}。導出静脈を有する膵島は特に小葉の辺縁や小葉間に多く存在すると報告されている²¹⁾。この導出静脈は高血糖や低血糖を制御するために、多量のホルモンや神経分泌物質を含んだ血液を速やかに体循環(静脈)に送り出す血管ではないかと推測している報告もある^{20,21)}。また、Murakami ら^{16,18)}はマウス、ラットおよびモルモットで小葉間に存在する膵島が多く、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、サルおよびヒトで小葉間に存在する膵島はほとんどなく、大部分の膵島が小葉内に存在し、前者では小葉間静脈に帰流する導出静脈が多く、後者では少ないと報告しており、彼らの報告^{16,18)}と同様、我々の観察でも導出静脈を有する膵島はほとんど存在しな

かった。以上の事から、「膵島—腺房門脈」を多く有する動物と導出静脈を多く有する動物とがあるため Kato らの報告¹⁴⁾にもあるように膵島のホルモン、特に insulin を投与した時に動物種によって膵外分泌が促進されたり、あるいは抑制されたりすることの 1 つの要因ではないかということが推察される。

なお、複胃であり反芻という特殊な消化機能を有するウシの膵島の微小循環において、これまで報告^{3,4,6-8,11,15,16,18,20-23,25)}のある単胃動物との相違については今回の観察で明らかにする事が出来なかった。

要 約

ウシの膵島周辺および膵島内の血管系を主として樹脂鋳型標本により SEM で観察し、加えて免疫組織化学的に膵島内の A (glucagon), B (insulin) 細胞の分布を明らかにし、それらの関係を明らかにした。

- 膵島に入る小葉内動脈は膵島の周辺部で二枝に別れて入っていき、膵島の少し内側から出る「膵島—腺房門脈」が観察された。

- 透明標本において膵島から直接、小葉間静脈に出る導出静脈が観察された。

- 膵左葉および膵体での膵島では glucagon 免疫活性細胞が膵島の周辺部に、insulin 免疫活性細胞が膵島の中心部で観察された。膵右葉での膵島では glucagon 免疫活性細胞が観察されず、insulin 免疫活性細胞のみが観察された。

文 献

- Baetens, D., F. Malaisse-Lagae, A. Perrelet and L. Orci, 1979: Endocrine pancreas: Three-dimensional reconstruction shows two types of islets of Langerhans. *Science*, **206**: 1323-1325.
- Bonner-Weir, S. and A. A. Like, 1980: A dual population of Langerhans in bovine pancreas. *Cell Tissue Res.*, **206**: 157-170.
- Fujita, T., 1973: Insulo-acinar portal system in the horse pancreas. *Arch. Histol. Jpn.*, **35**: 161-171.
- 藤田恒夫, 1983: 膵の微小循環からランゲルハンス島の本態を探る, 医学のあゆみ: **125**: C 588-C 593.
- Fujita, T. and S. Kobayashi, 1979: Proposal of a neurosecretory system in the pancreas. An electron microscope study in the dog. *Arch. Histol. Jpn.*, **42**: 277-295.

- 6) Fujita, T. and T. Murakami, 1973: Microcirculation of monkey pancreas with special reference to the insulo-acinar portal system. A scanning electron microscope study of vascular casts. *Arch. Histol. Jpn.*, **35**: 255-263.
- 7) Fujita, T. and Y. Watanabe, 1973: The effect of islet hormones upon the exocrine pancreas., In *Gastro-entero-pancreatic Endocrine System. A Cell-Biological Approach.* (T. Fujita, ed.), pp. 164-173, Igaku Shoin, Tokyo.
- 8) Fujita, T., Y. Yanatori and T. Murakami, 1976: Insulo-acinar axis, its vascular basis and its functional and morphological changes caused by CCK-PZ and caerulein., In *Endocrine Gut and Pancreas.* (T. Fujita, ed.), pp. 347-357, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- 9) Furuoka, H., H. Ito, M. Hamada, T. Suwa, H. Satoh and C. Itakura, 1989: Immunocytochemical component of endocrine cells in pancreatic islets of horses. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **51**: 35-43.
- 10) Galabova, R. and P. Petkov, 1975: Electron microscopy of the endocrine pancreas of cattle (*Bos taurus* L.). *Acta Anat.*, **92**: 560-569.
- 11) Henderson, J. R. and P. M. Daniel, 1979: A comparative study of the portal vessels connecting the endocrine and exocrine pancreas, with a discussion of some functional implications. *Quart. J. Exp. Physiol.*, **64**: 267-275.
- 12) 菅野富夫, 1988: 膵の内・外分泌—生理学の発展, 医学のあゆみ; **144**: 321-326.
- 13) Kanno, T. and A. Saito, 1976: The potentiating influences of insulin on pancreozymin-induced hyperpolarization and amylase release in the pancreatic acinar cell. *J. Physiol.*, **261**: 505-521.
- 14) Kato, S., S. Matsumoto, H. Kojima, H. Mineo, T. Onaga and K. Kikuchi, 1990: Effect of intravenous injection of insulin, glucose and tolbutamide on pancreatic exocrine secretion in sheep. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **61**: 360-365.
- 15) Miyake, T., T. Murakami and A. Ohtsuka, 1992: Incomplete vascular casting for a scanning electron microscope study of the microcirculatory patterns in the rat pancreas. *Arch. Histol. Cytol.*, **55**: 397-406.
- 16) Murakami, T. and T. Fujita, 1992: Microcirculation of the rat pancreas, with special reference to the insulo-acinar portal and insulo-venous drainage systems: A further scanning electron microscope study of corrosion casts. *Arch. Histol. Cytol.*, **55**: 453-476.
- 17) 村上宅郎, 大谷 修, 1980: 鋳型観察法, 図説走査電子顕微鏡—生物試料作製法—(田中敬一, 永谷 隆編集), pp. 133-139, 朝倉書店, 東京.
- 18) Murakami, T., T. Fujita, T. Taguchi, Y. Nonaka, and K. Orita, 1992: The blood vascular bed of the human pancreas, with special reference to the insulo-acinar portal system. Scanning electron microscopy of corrosion casts. *Arch. Histol. Cytol.*, **55**: 381-395.
- 19) 中山昭雄, 1987: 新版 生理学入門, pp. 207-208, 朝倉書店, 東京.
- 20) 大谷 修, 1988: 膵の微小循環, 医学のあゆみ; **144**: 344-347.
- 21) Ohtani, O., T. Ushiki, H. Kanazawa and T. Fujita, 1986: Microcirculation of the pancreas in the rat and rabbit with special reference to the insulo-acinar portal system and emissary vein of the islet. *Arch. Histol. Jpn.*, **49**: 45-60.
- 22) Syed Ali, S., 1984: Angioarchitecture of the pancreas of the cat. Light-, scanning- and transmission electron microscopy. *Cell Tissue Res.*, **235**: 675-682.
- 23) Syed Ali, S., M. M. Syed Ali, M. A. Hafeez and M. M. Ahmad, 1991: Microangioarchitecture of the islets of Langerhans in the snakes, *Naja naja*, *Vipera russelli*, and *Echis carinatus*. *Cell Tissue Res.*, **266**: 83-88.
- 24) 和栗秀一, 1980: 家畜の器官組織学 改訂版, pp. 71-76, 学窓社, 東京.
- 25) Wharton, G. K., 1932: The blood supply of the pancreas, with special reference to that of the islands of Langerhans. *Anat. Rec.*, **53**: 55-81.

Summary

The blood vascular system of pancreatic islets of cattle was investigated by using primarily scanning electron microscopy by vascular corrosion casts. Furthermore, the distributions of A (glucagon) and B (insulin) cells in the islet were studied by immunohi-

stochemical technique.

1. The intralobular arteriole coming into the islet separated into two branches at the periphery of the islet. "Insulo-acinar portal vessels" were located slightly to the inner side of the periphery of the islet.

2. The emissary venule was directly left the islet.

3. Glucagon cells were located at the periphery of the islet and insulin cells at the center of the islet in the left lobe and body. In the right lobe, the islet was composed solely of insulin cells with no glucagon cells.

Table 1. Abbreviations used in figures

A : interlobular artery	a : insular arteriole	aa : acinar arteriole
L : pancreatic islet	e : insulo-acinar portal vessel	Ex : exocrine portion
v : intralobular venule	V : interlobular vein	* : leaked resin from vessel

Fig. 1. A scanning electron micrograph of a vascular corrosion cast of the cattle pancreas. A large pancreatic islet, which is composed of capillaries, is about $150 \times 140 \mu\text{m}$. An intralobular arteriole coming into the islet separates into two branches at the periphery of the islet. "Insulo-acinar portal vessels" which are located slightly to the inner side of the periphery of the islet extend to the capillaries of the exocrine portion. $\times 140$

Fig. 2. A scanning electron micrograph of a vascular corrosion cast of the cattle pancreas. A small pancreatic islet measures about $85 \times 75 \mu\text{m}$. "Insulo-acinar portal vessels" leave the islet radially and enter the exocrine portions. $\times 140$

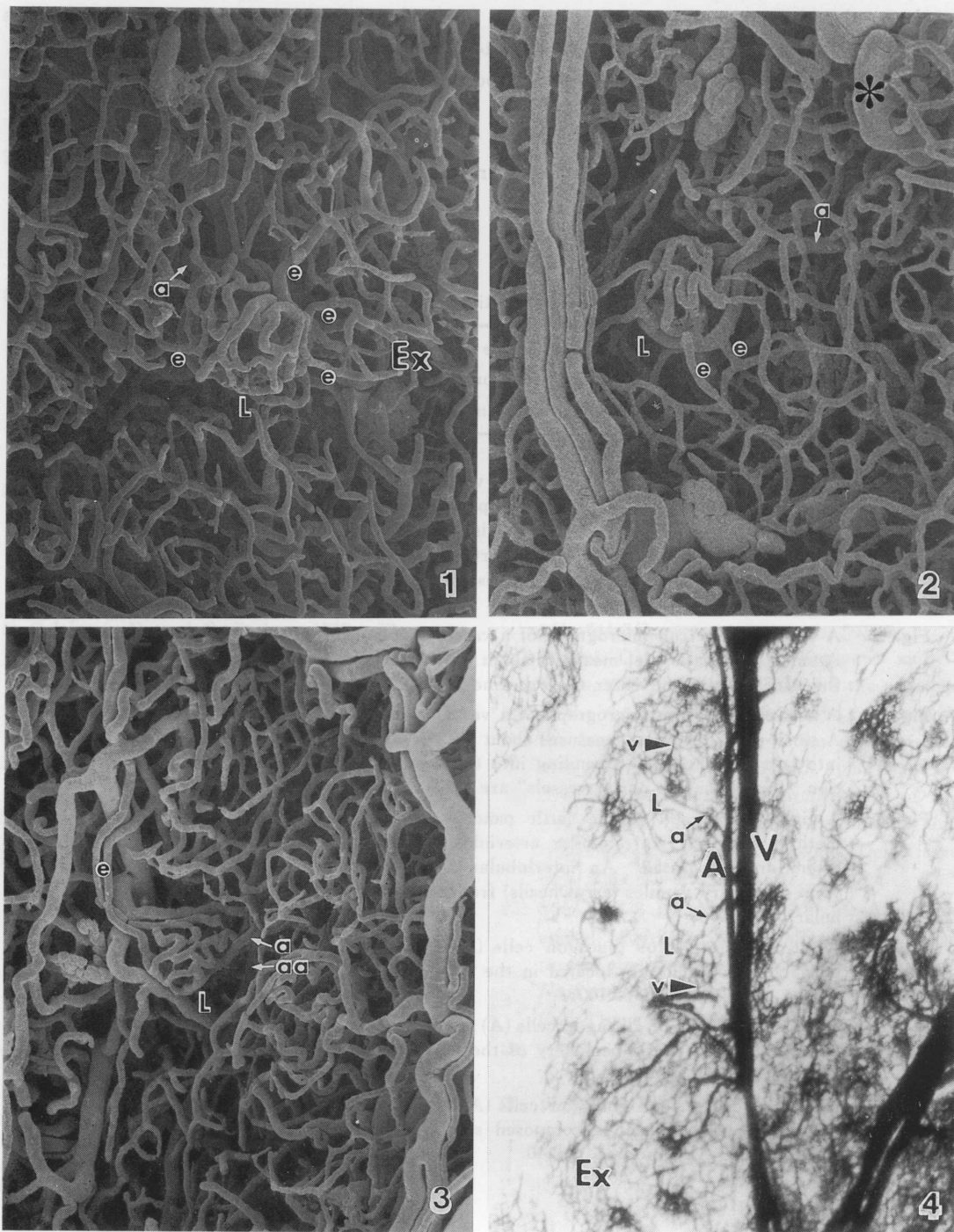
Fig. 3. A scanning electron micrograph of a vascular corrosion cast of the cattle pancreas. A small pancreatic islet measures about $100 \times 90 \mu\text{m}$. An intralobular arteriole separates into two branches, one extending into the islet and the other into the exocrine portion. "Insulo-acinar portal vessels" are observed. $\times 140$

Fig. 4. A light micrograph of the cattle pancreas injected with India ink and cleared in methyl salicylate. Intralobular arterioles (arrows) extending from the interlobular artery are recognized. An interlobular artery runs together with the interlobular vein. Emissary venules (arrowheads) from the islet continue directly to the interlobular vein. $\times 85$

Fig. 5. Light micrographs of glucagon cells (A) and insulin cells (B) of the body. In the body, glucagon cells are located in the periphery of the islet and insulin cells in the center. ABC-method. $\times 100$

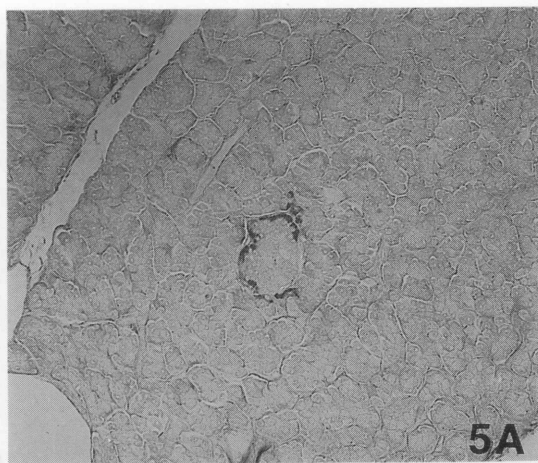
Fig. 6. Light micrographs of glucagon cells (A) and insulin cells (B) of the left lobe. Glucagon cells are located in the periphery of the islet and insulin cells in the center. ABC-method. $\times 100$

Fig. 7. Light micrographs of glucagon cells (A) and insulin cells (B) of the right lobe. In the right lobe, the islet is composed solely of insulin cells, with no glucagon cells (dotted line). ABC-method. $\times 100$

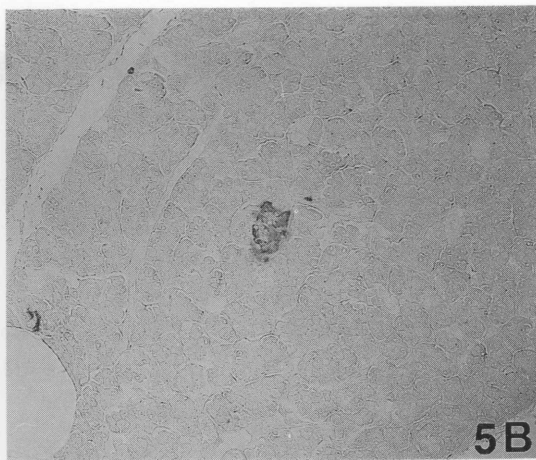


Summary

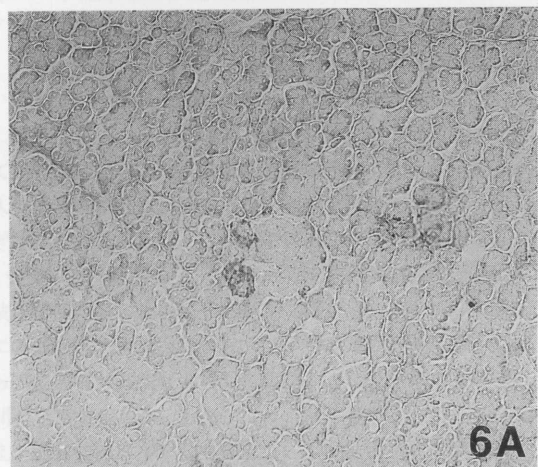
The blood vascular system of pancreatic islets of cattle was investigated by using primarily scanning electron microscopy by vascular corrosion casts. Furthermore, the distributions of A (glucagon) and B (insulin) cells in the islet were studied by immunohistochemistry.



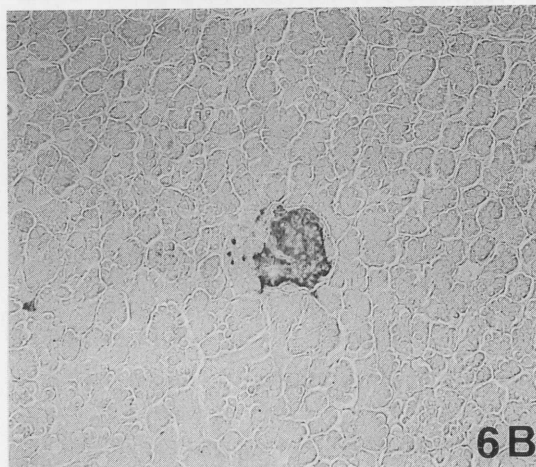
5A



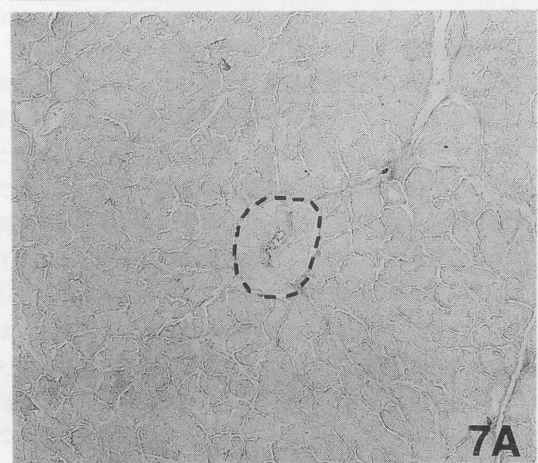
5B



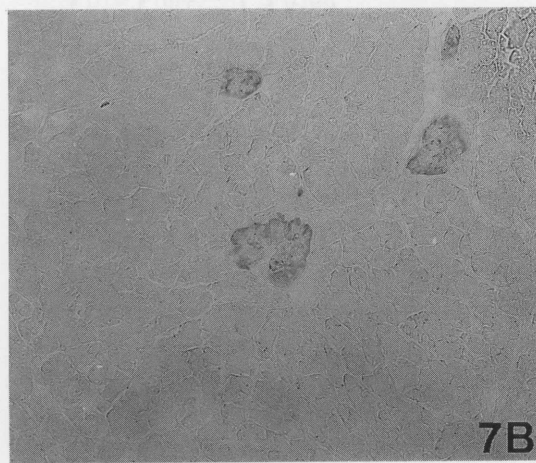
6A



6B



7A



7B

— 1 —

— 2 —