Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Development of pancreatic endocrine cells in the rat fetus

藤井, 繁樹

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
1979-03-31
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲0280
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000280

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

〔 5 〕

氏名・(本籍)	藤井繁樹(ふじいしげき)　(大阪府)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博い第272号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の日付	昭和54年3月31日
学位論文題目	Development of Pancreatic Endocrine Cells in the Rat Fetus ラット胎仔における膵内分泌細胞の発生
審査委員	主査 教授 馬場茂明 教授 溝口史郎　教授 杉山武敏

論文内容の要旨

緒　言

膵内分泌細胞の個体発生は古くより研究されてきたが，現在でもなお未知の部分を多く残している。従来の通常染色法や電子顕微鏡による観察では，発生の初期段階における細胞の同定が困難であり，そのため内分泌細胞の発生の時期や場所について意見が一致していなかった。また，膵内分泌細胞の起源は古典的に腸上皮由来，すなわち内胚葉性であるとされてきたが，Pearseは膵内分泌細胞が，ニューロンと同様にアミン産生能力をもつことに着目し，それらが神経外胚葉，とくに神経稜から発するという仮説を提唱し新たな論議を巻きおこしている。

本研究は，糖尿病を始めとする病態実験に頻繁に使用されるラットの各膵内分泌細胞の個体発生過程を明らかにすることを目的として各膵ホルモンに対する特異抗体を使用し，現時点で最も鋭敏で特異的と考えられる免疫組織化学を行ったものである。

実験材料および方法

1) 組　織

Wistar系ラットを交配させて膣膏中に精子を認めた日を妊娠0日とし，妊娠10日目から15日目までの胎仔および16日目から21日目までの膵臓をブアン液で固定し脱水後，パラフィンに包埋した。薄切した切片を脱パラフィンした後，0.3%過酸化水素加100%エタノールで20分間，反応させ内因性ペルオキシダーゼをブロックしたのち，酵素抗体法間接法を行った。

2) 抗　体

抗インスリン抗体，抗グルカゴン抗体，抗ソマトスタチン抗体，抗ガストリン抗体，抗ウシ膵ポ

リペプタイド（PP）抗体，ペルオキシダーゼ標識抗家兎IgG ヤギIgG，ペルオキシダーゼ標識抗モルモットIgG ヤギIgGを使用した。

3) 免疫組織化学

第1抗体を室温で1時間，第2抗体も室温で1時間反応させ，0.05％過酸化水素加3，3′－diaminobenzidine－tetrahydrochloride液で抗原抗体結合部位を明らかにした。対照実験として吸収試験を行った。

実験結果

胎生11日目に最初に前腸の背側部と腹側部にグルカゴン陽性細胞を認めた。これらの細胞には，腸管内腔に細胞質の突起を伸ばした開放型の細胞と，他の上皮細胞により内腔と遮断された閉鎖型の細胞があった。

胎生12日目，腹側および背側膵原基が上皮性細胞の円形の塊として腸の近くに認められた。その細胞集団の周辺部の大型の細胞の大部分のものはグルカゴン免疫活性を示した。

胎生13日目，大型の内分泌様細胞は増加し帯状構造を示した。

胎生14日目，インスリン陽性細胞とPP陽性細胞が外分泌部の導管より出芽した小さな細胞塊内に認められた。

胎生17日目にソマトスタチン陽性細胞が，また胎生18日目には，ガストリン陽性細胞が同じく外分泌部の導管より出芽した部分に認められた。

胎生19日目，内分泌細胞の集団は“膵島”と呼ぶにふさわしい規模となり，PP陽性細胞は既に膵島周辺部に位置する傾向を示した。この時，十二指腸の筋層間にグルカゴン陽性細胞が認められ，これらの細胞は位置関係ならびに細胞形態の特徴からアウエルバッハ神経叢の神経細胞に一致するものと判定された。

胎生21日目，すなわち出生直前の膵島では，周辺部にグルカゴン，ソマトスタチン，PP，ガストリン陽性細胞があり，中心部のインスリン陽性細胞群を取り囲んでいた。細胞数はインスリン陽性細胞が最も多く，次いでグルカゴン，PP，ソマトスタチン，ガストリン陽性細胞の順であった。その他，PP細胞は十二指腸上皮にも開放型の基底果粒細胞として認められた。

考　察

PP細胞の個体発生に関してSundlerらとLarssonによる2つの報告がある。前者は出生前には膵臓内でPP細胞を認めておらず，後者は出生前には，ほとんど存在しないと報告しているが，本研究によってPP細胞が胎生14日目という膵臓の発生初期に既に出現しており，出生直前には成熟ラットのものとほぼ同様の形態，分布および細胞数を示すことが初めて明らかにされた。また，胎生期ラットの十二指腸上皮にPP細胞が存在することも初めて認められた所見である。

また，本研究におけるインスリン，ソマトスタチン，ガストリン陽性細胞の個体発生に関する所見はSchweisthal，Alumets，およびLarssonのそれぞれの結果とほぼ一致した。しかし，グルカゴン陽性細胞についてはSchweisthalらの胎生13日目に認めたとする報告より早く，本研究では胎生11日目の膵原基が腸上皮より，今まさに分化しようとする極めて初期の段階で既に存在してい

るという新知見を得た。

上記の5種類の膵内分泌細胞が，いずれも腸上皮，あるいは，腸上皮が外方へ落ち窪んで出来た小管状膵外分泌部に最初に発見されたことは，全体として，膵内分泌細胞の大多数は内胚葉由来であることを示唆する有力な所見と考えられる。

一方，グルカゴン様免疫活性が胎生19日目の十二指腸の筋間神経叢内のニューロン様細胞内に発見された。KyösolaとRechardtは電顕で猫のOddi氏括約筋層内にA細胞を発見しているが，免疫組織学的にグルカゴン陽性細胞を同定したのは本研究が初めてである。この所見は神経と内分泌細胞の間の親密な性格の類似性を示唆するものであろう。

終りに，本研究により従来，不明瞭であった膵内分泌細胞の発生過程，とくに発生の初期段階における細胞分化の様式が明らかにされ，また，第4番目の膵島細胞と考えられているPP細胞の発生過程を従来の報告より正確に解き明かすことができた。

論文審査の結果の要旨

膵内分泌細胞の個体発生は古くより研究されてきたが，とくに最近，各種の膵内分泌ホルモン並びに活性ペプチドの発見が相つぎ，さらに免疫組織化学の発達にともない，その細胞発生の起源についての研究が容易となった。

本研究は，膵内分泌疾患の病態と治療のための基礎的研究の一端として，膵ラ島を形成するインスリン，グルカゴン，ソマトスタチン，ガストリン，Pancreatic polypeptide陽性細胞の発生状態を解明することを目的として行なわれたものである。

実験対照としては，Wistar系ラットを交配させ膣膏中に精子を認めた日を妊娠0日として，10日目より15日までの胎仔，および16日より21日までの膵を用いた。

各組織切片については，酵素抗体法間接法にて各陽性細胞を追及した。よって，出生までのラット膵内分泌細胞の発生について，次の結果を得た。

1) グルカゴン陽性細胞は胎生11日目に出現する最初の膵内分泌細胞であった。この時点では背側膵原基は未だ小さく，腹側膵原基はほとんど形成されていない。グルカゴン産生細胞の大部分は上皮内に存在した。

2) インスリン陽性細胞とpancreatic polypeptide（PP）陽性細胞は胎生14日目，ソマトスタチン陽性細胞とガストリン陽性細胞はそれぞれ胎生17日目と18日目，小管状の外分泌部より出芽した小細胞塊内に出現した。

3) PP細胞は次第に数を増し，出生前に成熟ラット膵のものに匹適する数と形態をとるに至る。一方，十二指腸上皮にもPP細胞は開放型基底果粒細胞として認められた。

4) 興味ある所見として，グルカゴン様免疫活性が胎生19日目の十二指腸筋層のアウエルバッハ神経叢のいくつかのニューロン様細胞内に発見された。

以上の結果より，本研究の独創的な成果は，グルカゴン陽性細胞が胎生11日目の膵原基が腸上皮

より分化する極めて初期の段階で既に存在しているということ，またPP細胞が胎生14日目より出現するという新しい知見を得たこと，さらにグルカゴン様免疫活性がアウエルバッハ神経叢のいくつかのニューロン様細胞内に見出しうることは，膵内分泌機能が，神経性調節と，きわめて密接であることを裏付けるものと考えられること，また膵ラ島の移植，再生を目的とする治療法として胎児膵ラ島の選択時期，増殖可能な最適条件を知る上に，貴重な資料を提供するものと考えられ細胞発生学，並びに臨床治療学への基礎的研究として価値ある業績を認める。よって本研究者は，医学博士の号位を得る資格があると認める。