



Title	分離臍ランゲルハンス島のインスリン含有量に及ぼす虚血の影響に関する実験的研究
Author(s)	中村, 正廣
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3052198
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

①

文論主

分離臍ランゲルハンス島のインスリン含有量
に及ぼす虚血の影響に関する実験的研究

大阪大学医学部 外科学第一講座

(主任: 川島康生教授)

中村正廣

目 次

緒 言

対 象

方 法 (1) 虚血保存の方法

(2) ラ島の分離の方法

(3) 分離ラ島の培養の方法

(4) ブドウ糖刺激試験の方法

(5) ラ島よりのインスリン抽出の方法

(6) インスリンの測定方法

(7) インスリン含有量ならびに分泌量

の評価方法

(8) 推計処理

成 績 (1) インスリン含有量

(2) ブドウ糖刺激に対するインスリン
分泌の経時的变化

(3) ブドウ糖刺激に対するインスリン
分泌量

(4) 刺激ブドウ糖濃度の差とインス
リン分泌量

考 察

總 括

謝 辞

参考文献

付図、付表

緒 言

臍ランゲルハンス島（以下、ラ島と略す）

移植は、臨床例はもとより実験においても移植前の分離ラ島のホルモン含有量あるいはラ島の機能が不明のまま移植されている。すなわち、分離ラ島機能は、移植後のrecipientの血糖値の変動から結果的に評価されている(1-4)。

臨床上、donor臍はラ島分離操作に至るまでの間、虚血に晒される。虚血は分離ラ島の機能に傷害を与える因子の一つと考えられるが、虚血が分離ラ島のホルモン含有量あるいは分離ラ島機能に及ぼす影響についての系統的研究はない。

本研究においては、移植前のラ島の機能評価を試みるとともに、分離操作開始までの虚血が分離ラ島のインスリン含有量およびインスリン分泌能に及ぼす影響を明らかにせんとした。また、1日培養が、虚血を経たラ島のイ

ンスリン含有量およびインスリン分泌能に及
ぼす影響についても明らかにせんとした。

対象

雑種成犬（体重6.7-9.6kg、平均体重8.4kg）

6頭を使用した。オス3頭、メス3頭であった。

ヘントハルビタールナトリウム静脈麻酔下に開腹、全臍を摘出した。直ちに4°C生理食塩水中に移し、以下の実験に供した。

方法

（1）虚血保存の方法（図1）：

摘出臍は、直ちに均等に7分割した。1分割の平均重量は、 2.2 ± 0.8 gであった。分割臍の任意の一片を直ちに下記の方法でラ島の分離操作を実施し、得られたラ島を0時間虚血群（対照群）とした。残りの6片を無作為にそれぞれ以下の条件下：①4°C、Hanks液中（低温虚血群）、②37°C、Hanks液中（温虚血群）、③37°C、ビニールパックに臍片を納め残存空間が最少となるように脱気して密着被包（脱

気温虚血群)、にて保存した。各々の群において3時間および5時間の保存を行った後、直ちにラ島分離操作を行った。

(2) ラ島の分離の方法(図2)

Collagenase(Type IV, Sigma Chemicals, St. Louis 米国)1.0 mg/ml濃度の38°C, Hanks溶解液(Hanks Balanced Solution, 阪大微生物病研究会)10 mlを、21G針を用い臍片内に注入し臍を膨化させた。これを38°C保温下で15分の間に5回行った。形態が崩壊し始めた臍片より、鑷子を用い鈍的に臍管あるいは血管を除去した。さらに臍実質組織が最大径1-2mmになるように鉗で細切した。

細切した組織をcollagenase 1.0 mg/ml濃度の38°C Hanks溶解液に移し、20分間、用手振盪を行い消化した。泥状化した臍組織液を室温にて2000 rpm、10秒間遠沈した。上層混濁液を捨て、沈澱組織を室温のHanks液2 mlで洗浄した。この操作を3回行った。洗浄後の組織

液は steel mesh ($420 \mu m$ pore size) を通過させた。

得られた組織液を実体顕微鏡下に観察し、ガラス管を用い分離ラ島を吸引採取した。ラ島周囲が不整で、強く変形しているものは除外して、ラ島辺縁に外分泌細胞の付着が殆ど認められないラ島を選択した。このようにして採取したラ島は、Neutral red (Sigma Chemicals)による生体染色にて良好な染色性を示した。以下の本研究に於いては、上記の基準を満たすラ島を用いた。ラ島分離に要した全操作時間は、最短 50 分～最長 63 分を要した。分離操作時間は各群間に有意の差を認めなかった（表 1）。

各実験犬より分離採取されたラ島 60 個のうち、ブドウ糖刺激試験用に 20 個を供した。さらに 30 個を培養保存した。残る 10 個をブドウ糖刺激前のラ島内インスリン含有量測定のため、 -20°C に凍結保存した。

(3) 分離ラ島の培養の方法

培養液は、ヘニシリングカリウム 100 U/ml, 硫酸ストレプトマイシン 100 μg/ml 添加 10 % FCS 含有のブドウ糖濃度 200 mg/dl の RPMI 1640 (阪大微生物病研究会) を用いた(5)。マルチプレート(24ウェル、住友ベークライト)の各ホール内の培養液 2 ml に、各群の分離されたラ島を 10 個ずつ入れた。95% O₂, 5% CO₂, 37°C 培養装置内で 24 時間 静置培養した。

培養後のラ島 10 個をブドウ糖刺激前のラ島として、インスリン含有量測定のために凍結保存した。残る 20 個の培養ラ島は、培養していないラ島と同様に刺激試験に供した。尚、実態顕微鏡下に観察し、強度の変形を来したラ島は除外した。このようにして選別した培養ラ島は、Neutral red による生体染色にて良好に染色された。

(4) ブドウ糖刺激試験の方法(図 3)

各群のラ島を、刺激試験用容器 1 対に各々

10個づつ収容した。刺激試験直前に室温の Hanks液 1 mlにて容器内のラ島を洗浄した。ラ島 10個を収容した容器を所定のブドウ糖溶液に浸し、37℃、95%O₂、5%CO₂の培養装置内で静置させることによりブドウ糖刺激を行った。

ブドウ糖溶液は、10%牛胎児血清(FCS)含有のHanks液にブドウ糖濃度 100 mg/dl(5.6 mmol/L)ならびに 300 mg/ml(16.7 mmol/L)に調整した2種類を用いた。図3に示した如くラ島を収容した小容器は、ブドウ糖溶液を入れた大容器に13分間毎、順次6回漬浸し、容器の移動操作に要する時間を含め計80分間刺激した。

刺激に用いたブドウ糖溶液を採取し、後日のインスリン測定のために-20℃に凍結保存した。

(5) ラ島よりのインスリン抽出の方法

Bicarbonate Buffer 1 mlを入れた容器に収容、凍結保存したラ島 10個を測定時に融解し、

15秒間、超音波破碎機(Branson Sonic Power社)にて細胞を破壊処理した。インスリンの抽出は、酸・アルコール法にて行った(6)。

(6) インスリンの測定方法

抽出液中のインスリン値(IRI)ならびに刺激溶液中のインスリン値は、インスリン測定用キット(Phadesph Insulin RIA, シオノギ)による二抗体法radioimmunoassayにより測定した。

(7) インスリン含有量ならびに分泌量の評価方法

分離ラ島のインスリン含有量は、ラ島10個中に含有するインスリン量($\mu\text{U}/10\cdot\text{Islets}$)に換算して、表記した。

分離ラ島のインスリン分泌量は、1分間当たりラ島1個が各刺激溶液中に分泌するインスリン量($\mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$)に換算して、表記した。

(8) 推計処理の方法

測定数値および計算数値は、平均値±標準誤差 (Mean±SEM) で表した。有意差検定は、Analysis of variance (7) を用い、危険率 $P < 0.05$ をもって有意と判定した。

研究成績

(1) インスリン含有量(表2)

1. 培養していないラ島:

ブドウ糖刺激前のインスリン含有量:

対照群(0時間虚血群)の $1157 \pm 236 \mu\text{U}/10\cdot\text{Islets}$ に比し、3時間の低温虚血群、温虚血群、脱気温虚血群は有意の差を認めなかつた。また、3群の間で相互に有意の差は認められなかつた。

5時間の温虚血群の $477 \pm 32 \mu\text{U}/10\cdot\text{Islets}$ 、脱気温虚血群の $418 \pm 180 \mu\text{U}/10\cdot\text{Islets}$ は、対照群ならびに低温虚血群の $1203 \pm 97 \mu\text{U}/10\cdot\text{Islets}$ に比し有意に低値であった。

2. 1日培養後のラ島:

ブドウ糖刺激前のインスリン含有量:

対照群ならびに各虚血群は、5時間の脱気温虚血群を除き、対応する培養していないラ島に比し有意に低値であった。3時間ならびに5時間虚血の各々3群は、対照群に比し有意の差は認められなかった。また、各々3群の間でも相互に有意の差は認められなかった。

(2) ブドウ糖刺激に対するインスリン分泌の経時的変化

培養していないラ島には、ブドウ糖100 mg/dlならびにブドウ糖300 mg/dlの刺激に対してインスリン分泌の経時的減少傾向が認められた。しかし、各群間に有意の差を認めなかった(図4)。

また培養後のラ島のブドウ糖刺激に対するインスリン分泌の経時的変化にも一定の傾向はなく、各群間に有意の差を認めなかった(図5)。

(3) ブドウ糖刺激に対するインスリン分泌量(表3)

1. 培養していないラ島:

①ブドウ糖濃度100 mg/dl刺激に対するインスリン分泌量:

5時間の脱気温虚血群の $0.27 \pm 0.06 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ は、対照群の $0.57 \pm 0.07 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ に比し有意に低値であった。

その他の3時間および5時間の虚血群は、対照群に比し有意の差は認められなかった。

②ブドウ糖濃度300 mg/dl刺激に対するインスリン分泌量:

5時間の温虚血群の $0.28 \pm 0.07 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ 、脱気温虚血群の $0.23 \pm 0.09 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ は、対照群の $0.52 \pm 0.06 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ に比し有意に低値であった。

その他の3時間および5時間の虚血群は、対

照群に比し有意の差は認められなかった。

2. 1日培養後のラ島:

①ブドウ糖濃度100 mg/dl刺激に対するインスリン分泌量:

3時間の脱気温虚血群の $0.02 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ は、対照群の $0.10 \pm 0.02 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ に比し有意に低値であった。

5時間の温虚血群の $0.03 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ 、脱気温虚血群の $0.02 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ は、ともに対照群に比し有意に低値であった。

また、対照群を含む3時間および5時間の全虚血群は、対応する培養していないラ島の各虚血群に比し有意に低値であった。

②ブドウ糖濃度300 mg/dl刺激に対するインスリン分泌量:

3時間の温虚血群の $0.04 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$

min、脱気温虚血群の $0.03 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ は、対照群の $0.11 \pm 0.03 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ に比し有意に低値であった。

5時間の温虚血群の $0.02 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ 、脱気温虚血群の $0.01 \pm 0.01 \mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min}$ は、対照群に比し有意に低値であった。

また、対照群を含む3時間および5時間の全虚血群は、対応する培養していないラ島の各虚血群に比し有意に低値であった。

(5) 刺激ブドウ糖濃度の差とインスリン分泌量

100 mg/dlと300 mg/dlのブドウ糖刺激に対するインスリン分泌量は、いずれの群に於ても有意の差は認められなかった。

考 察

Sutherland(8)は、インスリン含有量の多いラ島ほど移植片としての機能が良好であったと報告した。Hesse(9)は、正常血糖値を維持し得なかったラ島移植片ではインスリン含有量が低値であった、と報告した。この様に、分離ラ島のインスリン含有量がラ島の内分泌機能に概ね相関する。従って、インスリン含有量の多いラ島の収集がラ島移植を成功させる要因の一つと考えられる。しかしながら、ラ島収集に不可避な虚血が、分離ラ島のインスリン含有量に及ぼす影響についての報告はない。本研究の成績では、5時間の温虚血に晒されたラ島は、虚血に晒されなかったラ島に比しインスリン含有量は有意に低値を示すことが明らかとなった（表2）。従って、分離操作時間平均52分を加え6時間以上の温虚血を経た分離ラ島はインスリン含有量が少なく、虚血を経ないラ島に比し移植後の機能の低下

を来す可能性がある、と考えられた。

ラ島移植の効果を得るには、移植ラ島が含有するインスリン量のみならず、生体の代謝環境の変化に呼応してインスリンが分泌されねばならない。本研究に於いては、分離されたラ島のインスリン分泌機能を生理的変動域内のブドウ糖刺激に対するインスリン分泌動態ならびにインスリン分泌量により評価せんとした。

100あるいは300 mg/dlのブドウ糖刺激に対するインスリン分泌動態は、各々のラ島の個体差が著しく、群間に差異は認められなかつた。従って、本研究において用いた方法による *in vitro* のインスリン分泌動態の観察からは、ラ島の内分泌機能の良悪を判定することは困難であると考えられた。

次に検討したラ島のインスリン分泌量は、5時間以上の温虚血を経たもののみが、虚血を経ないラ島に比し有意に低下していることが判明した。この事実より、5時間の温虚血は、

明らかにラ島のインスリン分泌能を低下せしめると考えられる。

さて、 Lemay(10)は、 2日間培養した後のラットのラ島は分離直後のラ島に比べ、 ブドウ糖刺激に対し *in vitro* でのインスリン分泌が良好であった、 と報告している。 Kojima(11)もラットのラ島の3日間の培養が、 ブドウ糖刺激に対する *in vitro* でのインスリン分泌を良好にさせた、 と報告している。 また、 著者らも犬膵の分離直後のラ島では認められないが、 1日培養後のラ島は、 50 mg/dlと500 mg/dlのブドウ糖濃度差に相応するインスリン分泌量の有意の差を示すことを *in vitro* で観察している(12)。 これらの事実より、 分離ラ島は培養の過程で、 ラ島本来の反応性を回復するのではないかと考えられる。

本研究においては、 1日培養後のラ島のインスリン含有量は、 各群の培養していないラ島の含有量に比し殆どの群に於て有意に減少することが判明した。 また、 1日培養後には各群

間にインスリン含有量に有意の差異が観察されなくなった。この事実より、分離後1日の間にインスリンは非特異的にラ島より分泌され、本来の含有量以下の状態になっていると考えられた。

さらに、培養後にはグルコース刺激に対するインスリン分泌量は、培養しないラ島に比し明らかに減少した（表3）。従って、本研究に於ける評価方法にては、1日培養によりラ島のインスリン分泌機能が良好となる証左は得られなかった。しかしながら、3時間ならびに5時間の脱気温虚血を経たラ島はブドウ糖100mg/dl刺激に対し、また、3時間ならびに5時間の温虚血あるいは脱気温虚血を経たラ島はブドウ糖300 mg/dlの刺激に対して、インスリン分泌量が虚血を経ないラ島に比し有意に小さいことが観察された。この事実より、培養を経ないラ島においては観察されなかった虚血条件の差異によるラ島機能の差異が、1日培養により明確化するのではないかと推察さ

れた。

著者が行った分離直後のラ島ならびに1日培養後のラ島は移植された場合、移植直後より生体の生理的血糖値の変動に十分対応できる保証はない。もちろん、生体に移植された場合と培養された場合では、自ずからラ島の置かれる環境が異なり、ラ島の反応性に差異が生ずる可能性はある。事実、著者と同じ方法にて分離した犬臍ラ島は、脾内自家移植後、明らかに血糖調節に関与していたことが教室のYumibaら(13)により確認されている。また、1日以上の培養を続ける場合には、ラ島本来の機能を回復する可能性もある(10, 11)。しかしながら、本研究の成績からは、5時間以上の温虚血に晒された臍より得たラ島は、移植効果を期待出来るとは断じ得えない。また、5時間以内の冷虚血状態で保存された臍より得られるラ島は移植効果を期待し得る、と考えられた。

総 括

犬臍分離ラ島のインスリン含有量ならびにインスリン分泌機能に及ぼす虚血の影響を観察した。虚血条件として、①4℃、低温虚血群、②37℃、温虚血群、③37℃、脱気温虚血群を設定した。各々の群において3時間ならびに5時間の保存を行い、虚血を経ない群を対照群として比較した。同じく、1日培養後のラ島についても検討した。その結果、以下の事実が観察された。

1. 3時間ならびに5時間低温虚血後のラ島のインスリン含有量は、対照群に比べ培養していないラ島において有意差を認めなかつた。1日培養後のラ島においても同様に差異が認められなかつた。
2. 5時間の温虚血ならびに脱気温虚血後のラ島のインスリン含有量は、対照群ならび

に5時間低温虚血後の含有量に比べ有意に低値であった。1日培養後のラ島のインスリン含有量は、5時間の脱気温虚血群を除き、培養しないラ島のインスリン含有量に比べ有意に低値であった。

3. 3時間ならびに5時間の低温虚血後のラ島のインスリン分泌量は、対照群に比べ培養していないラ島において有意差を認めなかつた。1日培養後のラ島においても同様に差異が認められなかつた。

4. 5時間の温虚血ならびに脱気温虚血を経たラ島は、対照群のラ島に比べブドウ糖刺激に対するインスリン分泌量が有意に低値であった。3時間あるいは5時間の温虚血ならびに脱気温虚血を経たラ島は、1日培養後には、対照群のラ島に比べブドウ糖刺激に対するインスリン分泌量は有意に低値であった。また、1日培養後のラ島

のインスリン分泌量は、培養しないラ島
のインスリン分泌量に比べ有意に低値で
あつた。

謝　　辞

稿を終わるにあたり御指導ならびに御校閲を賜わりました恩師、川島康生教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究を終始、直接御指導くださいました宮田正彦講師には心から感謝いたします。さらに本研究に御協力下さいました第一外科学教室の諸兄各位に厚く御礼申し上げます。

参考文献

1. Gray DWR, Morris PJ. Developments in isolated pancreatic islet transplantation. *Transplantation* 43 (3) :321-331, 1987.
2. Stegall MD, Sutherland DER, Hardy MA. Registry report on clinical experience with islet transplantation. *Transplantation of the endocrine pancreas in diabetes mellitus*. New York: Elsevier, 1988:224-233.
3. Sutherland DER, Moudry Kc. Pancreas transplantation registry report. *Transplant proc* 21 (1) :2759-2762, 1989.
4. Kolb E, Largiader F. Clinical islet transplantation. *Transplant proc* 17 (4) Suppl:205-207, 1980.
5. Anderson A. Isolated mouse pancreatic islets in culture: Effects of serum and different culture media on the insulin production of the islets. *Diabetologia* 14: 397-404, 1978.
6. Best CH, Haist RE, Ridout JH. Diet and insulin content of pancreas. *J Physiol* 97 (4) :107-119, 1939.
7. Zar JH. Multiple comparisons, In: Englewood Cliffs. Biostatistical Analysis. New Jersey Prentice-Hall, Inc., 1984.

8. Sutherland DER, Matas AJ, Steffes MW, Najarian JS.
A potential source of islet tissue for transplantation.
Diabetes 25 (12) :1123-1128, 1986.
9. Hesse UJ, Sutherland DER, Gores PF, S-Serra A, Najarian JS.
Comparison of splenic and subcapsular islet autografting
in dogs. *Transplantation* 41 (2) :271-274, 1986.
10. Lemay LT, Lemay A, Lacy PE. Somatostatin inhibition of
insulin release from freshly isolated and organ cultured
rat islets of Langerhans in vitro. *Biochem Biophys Res
Commun* 63 (4) :1130-1138, 1975.
11. Kojima Y, Nakagawara G, Miyazaki I. Culture of the islets
of Langerhans for transplantation. *Jpn J Surg* 12:71-75,
1982.
12. 中村正廣、宮田正彦、弓場健義、川島康生. イヌ分離ラ島の
insulin分泌能; 分離直後と1日培養後の差異について
日消外会誌 20 (12) :2801, 1987.
13. Yumiba T, Miyata M, Nakamura M, Tanaka Y, Hamaji M,
Kawasima Y. Experimental perfusion model of
autotransplantation islets in canine spleen.
Transplant Proc 22 (2) :800-801, 1990.

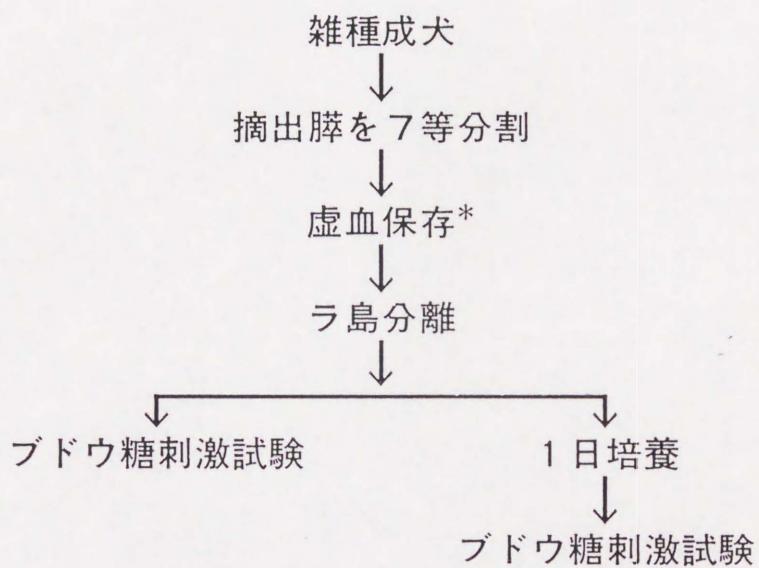
分離臍ランゲルハンス島のインスリン含有量
に及ぼす虚血の影響に関する実験的研究

付図 - 5点

大阪大学医学部 外科学第一講座

中村正廣

図 1. 対象および臍の虚血保存条件



*; 虚血保存条件



図 2. 膵ラ島分離方法

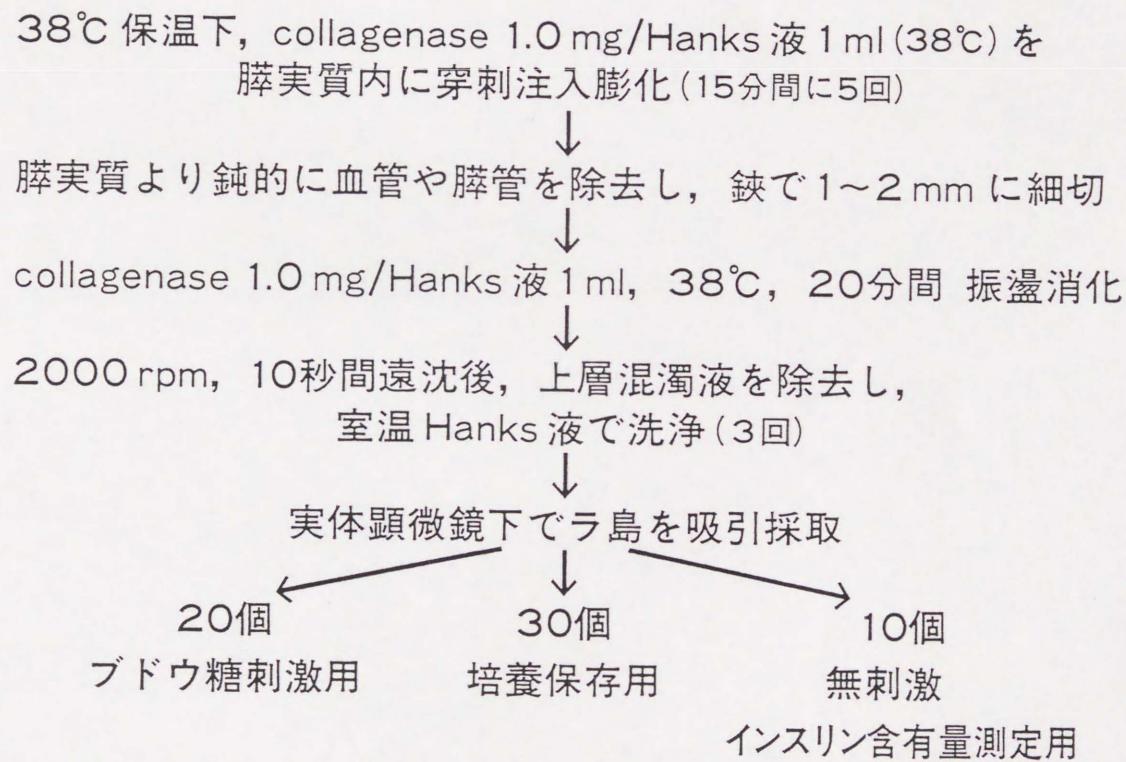
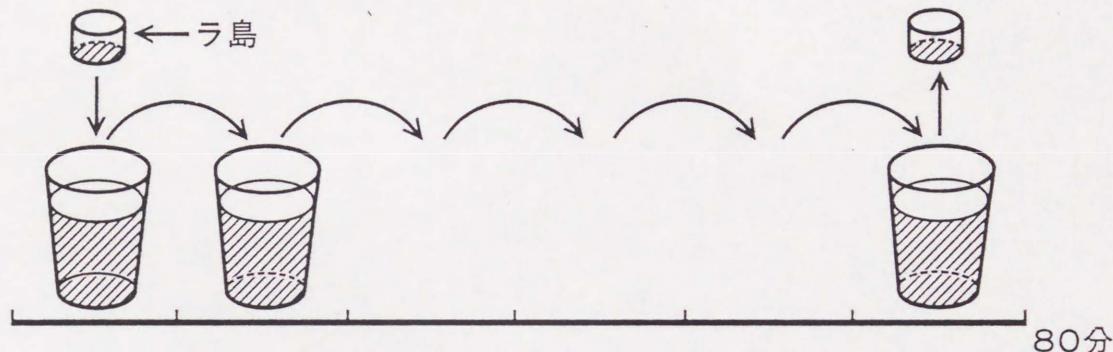


図3. ブドウ糖刺激試験方法

(1) ブドウ糖濃度 100 mg/dl



(2) ブドウ糖濃度 300 mg/dl

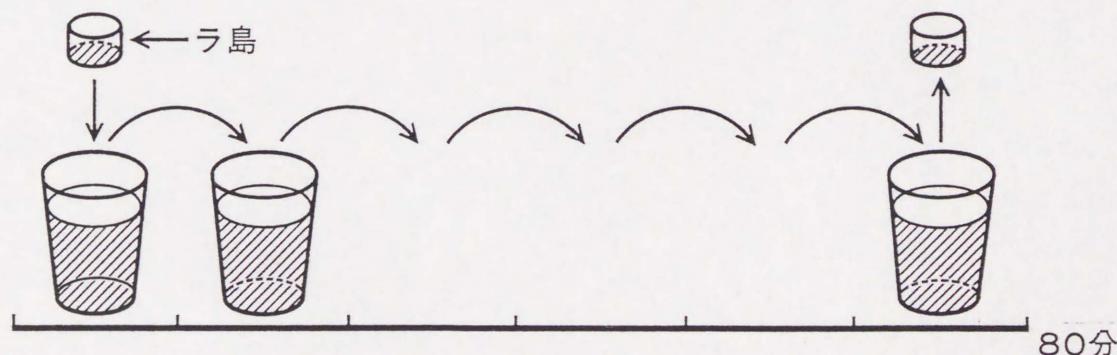


図4 ブドウ糖刺激に対するインスリン分泌の経時的变化
培養していない群

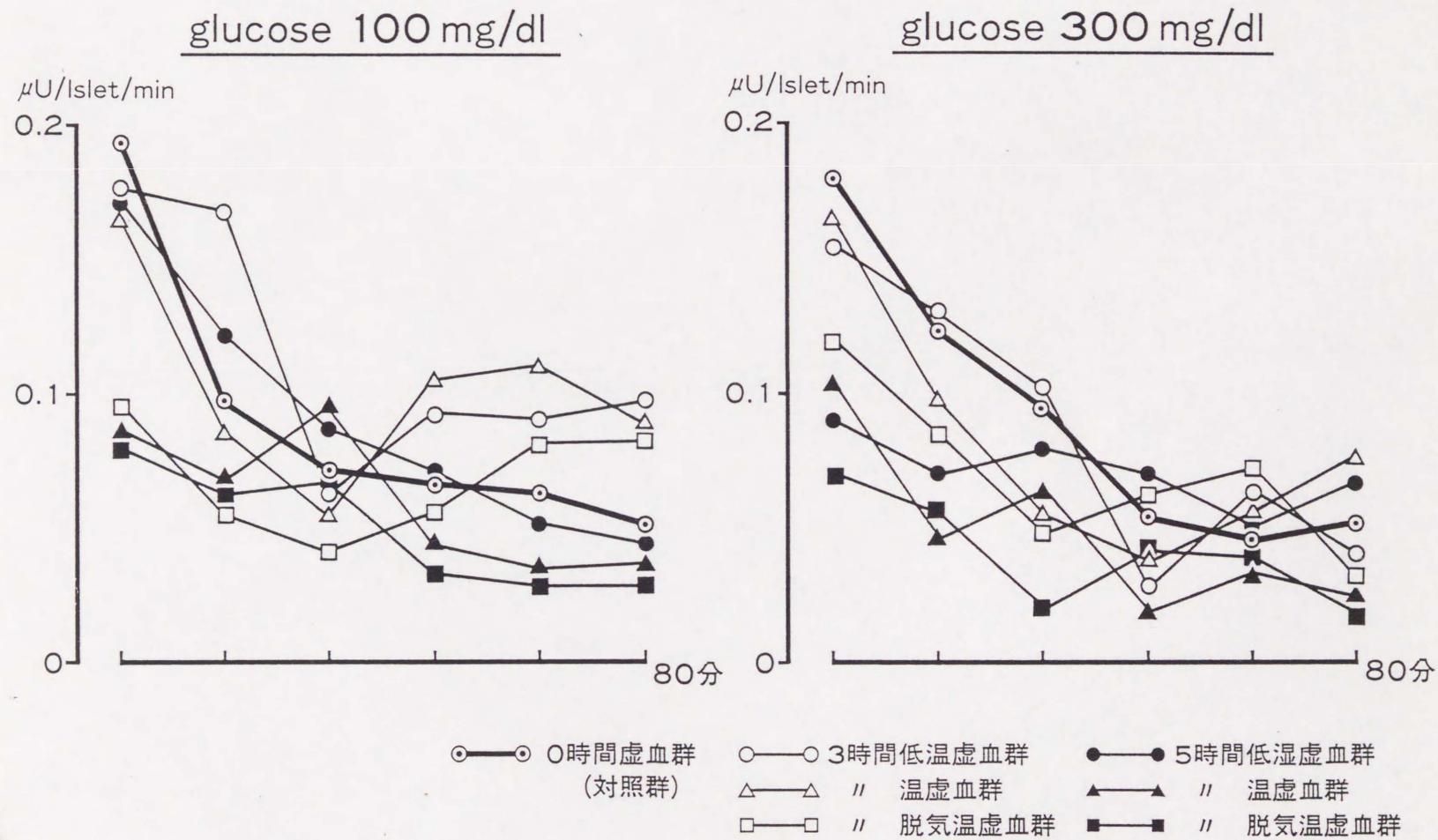
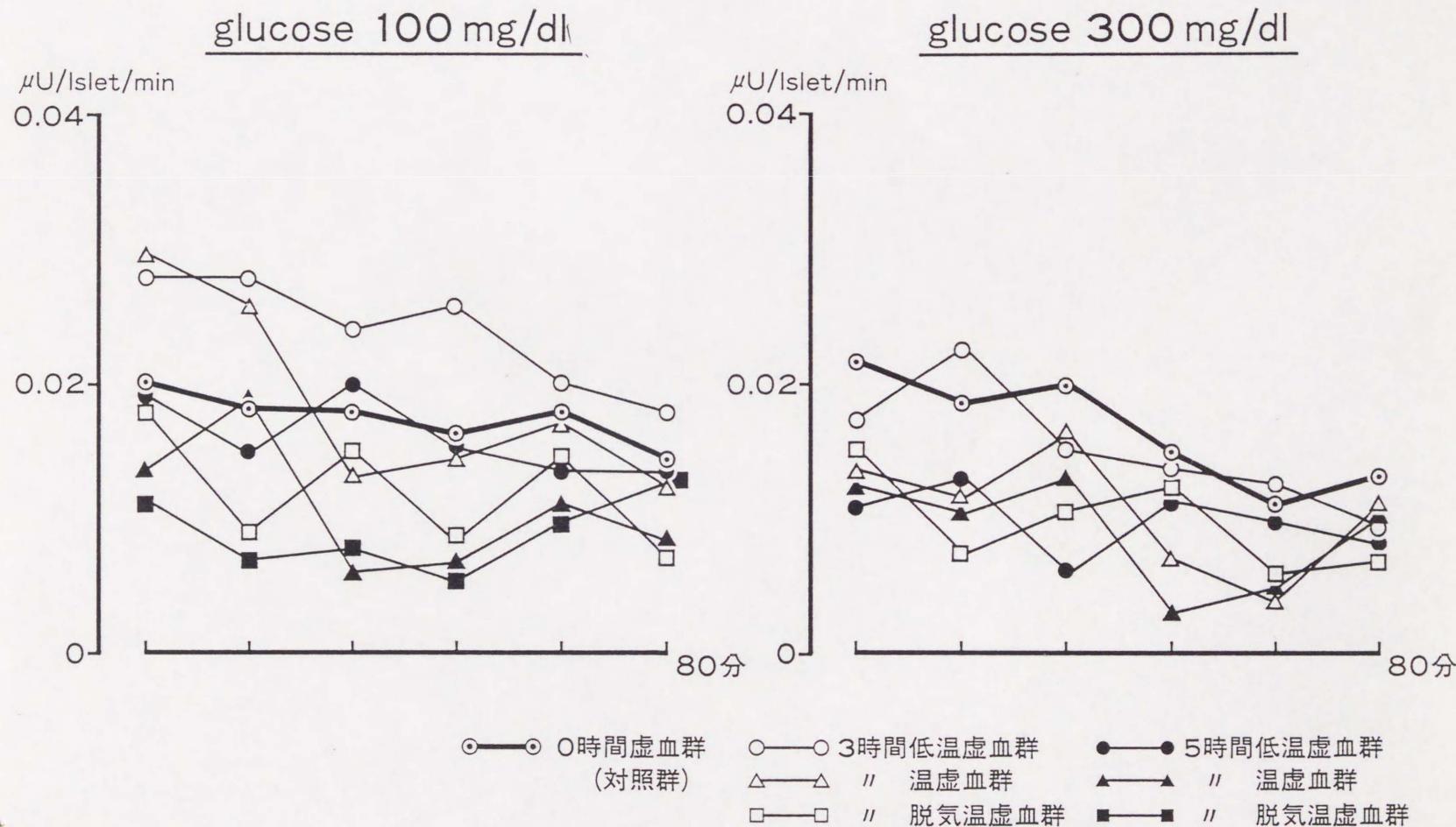


図5 ブドウ糖刺激に対するインスリン分泌の経時的变化
1日培養後のラ島



分離臍ランゲルハンス島のインスリン含有量
に及ぼす虚血の影響に関する実験的研究

付表 - 3点

大阪大学医学部 外科学第一講座

中村正廣

表 1. 各群のラ島分離操作時間(分)

(Mean±SEM)

0時間虚血群 対照群	3時間虚血群			5時間虚血群		
	低温虚血群	温虚血群	脱気温虚血群	低温虚血群	温虚血群	脱気温虚血群
53.3±2.6	55.0±3.2	55.0±3.2	52.5±4.2	54.2±3.8	54.2±4.9	52.5±2.7

n=6

表 2. ラ島のインスリン含有量 ($\mu\text{U}/10\cdot\text{Islets}$)(Mean \pm SEM)

	0時間虚血群 対照群	3時間虚血群			5時間虚血群		
		低温虚血群	温虚血群	脱気温虚血群	低温虚血群	温虚血群	脱気温虚血群
培養していないラ島	1157 \pm 236	1156 \pm 130	880 \pm 192	847 \pm 180	1203 \pm 97	477 \pm 32*	418 \pm 180**
1日培養後のラ島	329 \pm 57▲	274 \pm 37▲	386 \pm 101▲	304 \pm 55▲	320 \pm 68▲	261 \pm 51▲	244 \pm 26

n=6 *; P<0.05 対 対照群

■; P<0.05 対 5時間低温虚血群

▲; P<0.05 対 対応する培養していないラ島の各虚血群

表 3. ラ島のブドウ糖刺激に対するインスリン分泌量 ($\mu\text{U}/\text{Islet}/\text{min.}$)

(Mean \pm SEM)

ブドウ糖刺激濃度 mg/dl	0時間虚血群 対照群	3時間虚血群			5時間虚血群		
		低温虚血群	温虚血群	脱気温虚血群	低温虚血群	温虚血群	脱気温虚血群
培養して いないラ島	100	0.57 \pm 0.07	0.68 \pm 0.15■	0.51 \pm 0.14	0.39 \pm 0.10	0.50 \pm 0.17■	0.36 \pm 0.07
	300	0.52 \pm 0.06	0.69 \pm 0.23■	0.58 \pm 0.08	0.33 \pm 0.09	0.38 \pm 0.07	0.28 \pm 0.07*
1日培養後 のラ島	100	0.10 \pm 0.02▲	0.10 \pm 0.03▲■	0.06 \pm 0.01▲■	0.02 \pm 0.01▲*	0.06 \pm 0.02▲■	0.03 \pm 0.01▲*
	300	0.11 \pm 0.03▲	0.08 \pm 0.03▲■	0.04 \pm 0.01▲*	0.03 \pm 0.01▲*	0.04 \pm 0.02▲■	0.02 \pm 0.01▲*

n=6 *; P<0.05 対 対照群

■; P<0.05 対 脱気温虚血群

▲; P<0.05 対 対応する培養していないラ島の各虚血群