Establishment of a Rat Strain with Testicular Hypoplasia and its Morphological Observations

Hirofumi FUJITA**, Hiroshi IKADAI, Yoshio AGEMATSU,
Katsushi SUZUKI* and Tomonori IMAMICHI*

*The Imamichi Institute for Animal Reproduction, 3-100 Nissin-cho,
Omiya-shi, 330 *Department of Physiology, Nippon
Veterinary and Zootechnical College, 1-7-1 Kyonan-cho,
Musashino-shi, Tokyo, 180 Japan*

(Received for publication : September 14, 1982)

A testicular hypoplastic (T-H) rat strain, originating from the Wistar-Imamichi rat colony at the Institute for Animal Reproduction, has been maintained by full-sib matings since 1974 for eight filial generations. There were no abnormal signs in external features and growth patterns of the T-H strain. Testicular hypoplasia was detectable at about 8 weeks of age by palpation around the scrotum. Unilateral or bilateral testicular abnormalities were detected in 80 out of 391 males of this strain. The incidences were 32.5% for right side, 48.8% for left and 18.8% for both respectively. Reproductive performance of unilateral T-H males were not different from that of normal. While bilateral ones showed normal sexual behavior, they failed to produce their progenies. In adult T-H rats testicular weight was approximately two-fifth of the normal, and the accessory organs such as the seminal vesicles, epididymis and etc., especially located in the same side of the testicular hypoplasia, reduced their size and weight. Occasionally was seen lack or denaturation of the deferent duct or epididymis. At adult age, no spermatogenesis was observed in all hypoplastic testes with a few exception, and normal spermatogenesis in the testis of the normal side of unilateral T-H male.

異常小精巣ラットの育成と形態学的観察

藤田 博文**・筏井 洋・上松 嘉男・鈴木 勝士*・今道友則*

動物繁殖研究所

*日本獣医畜産大学

ラットにおける遺伝的精巣発育不全としては Long-Evans 系 [5], King-Holtzman 交雑系 [2], Wistar 系と Long-Evans 系との交雑系 [4] での報告がみられる。後二者においては体毛着色制限遺伝子 (常染色体性

優性遺伝子; H^c) 又は指欠損遺伝子 (常染色体性劣性遺伝子; hd) の多面作用として精巣発育不全が生じるとされている。

著者らは Wistar-Imamichi ラットコロニーにおい

**Present Address : Teikyo University School of Medicine, 2-11-1 Kaga, Itabashi-ku, Tokyo, 173 Japan (帝京大医学部)

てたまたま発見された1例の精巣發育不全雄ラットを起源とし、異常小精巣ラットを分離育成しつつある。本系統の精巣異常は片側性又は両側性に発現し、片側精巣發育不全の場合には妊性を有するが、両側精巣發育不全の場合には不妊となる。

本報では8世代までの観察に基づき、異常小精巣ラットの繁殖、發育および形態学的特徴について述べる。

材料および方法

由来および家系調査：1974年、動物繁殖研究所 Wistar-Imamichi ラット維持集団[1]内で触診により1例の雄ラットに片側精巣の發育不全が観察された。この雄ラットと生存姉妹とを親世代とし、兄妹交配により継代を続けた (Fig. 1)。また本系統の親世代となった雄ラットの近縁個体252例について精巣異常および類似の症例に関する家系調査を行なった。

継代方法、精巣異常個体の発現率および繁殖成績：両側性異常小精巣ラットは後述の如く妊娠を成立させるこ

とができないので、継代にあたり片側性異常小精巣ラットを種雄として使用した。雌ラットでは繁殖性に影響をおよぼす異常をほとんど認めなかったので、種親における選抜基準はとくに設けなかった。片側性異常精巣雄により継代された各世代について精巣異常個体の発現率を集計した。また両側性精巣異常個体の6例、片側精巣異常個体42例および同腹の表現型上正常な個体2例を本系統の雌52例と交配した成績 (受胎率、分娩率および産仔数) を集計し、さらに交配時の性行動についても観察した。

成長：5～17週齢まで毎週、異常小精巣ラット10例およびその同腹正常仔11例の体重を測定した。また同時に精巣を陰囊外部より触診し、精巣異常の触知が可能な週齢を検索した。

形態学的観察：6～8ヶ月齢の両側性異常小精巣ラット6匹、片側性異常小精巣ラット10匹および対照群として同腹の正常精巣ラット11匹を用い生殖器および主要内分泌臓器の重量を検索した。体重、体長、尾長の測定後エーテル深麻酔にて動物を屠殺解剖し、内部諸臓器における異常の有無を観察した。ついで精巣、精巣上体、精管、精囊、凝固腺、包皮腺、精管腺、前立腺、陰茎、副腎および下垂体を摘出し秤量した。各臓器を10%ホルマリン液にて固定した後、常法によりパラフィン包埋し薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。また剖検された動物のうち3匹の両側性異常小精巣ラットと8匹の片側性異常小精巣ラットについて、精巣、精巣上体の頭部および尾部をそれぞれの中央部で切断し、今道らの方法[3]に準拠して生理食塩液を約0.1ml 滴下したスライドガラス上に塗抹し、直ちに150倍で精子の存否を検索した。

成 績

家系調査：基礎動物 (親世代) となった異常小精巣ラットの両親又はその兄妹を片親として繁殖された1,029匹の子 (雌526匹、雄503匹) のうち調査が可能であった118匹の雄ラットおよび、基礎動物の祖父母又はその兄妹を片親として繁殖された777匹の子 (雌378匹、雄399匹) のうち134匹の雄ラットの合計252匹を調査した。その結果異常小精巣あるいは類似の疾患を持つ雄ラットは発見されなかった。

継代成績、精巣異常個体発現率および繁殖成績：8世代まで兄妹交配された異常小精巣ラットの一家系の家系図を Fig. 1 に示した。精巣異常は片側性又は両側性に

Fig. 1 A part of the pedigree chart of the testicular hypoplastic rat originating from the Wistar-Imamichi rat

Table 1. Incidence and affected side of the testicular hypoplasia

Generation	No. of Animals		affected side		
	Tested	Affected	Right	Left	Bilateral
P	3	1(33.3)	1(100)	0(0)	0(0)
F1	8	2(25.0)	0(0)	2(100)	0(0)
F2	22	1(4.5)	0(0)	1(100)	0(0)
F3	15	3(20.0)	1(33.3)	1(33.3)	1(33.3)
F4	48	9(18.8)	2(22.2)	4(44.4)	3(33.3)
F5	127	15(11.8)	5(33.3)	8(53.3)	2(13.3)
F6	87	24(27.6)	7(29.2)	13(54.2)	4(16.7)
F7	59	15(25.4)	4(26.7)	7(46.7)	4(26.7)
F8	22	10(45.5)	6(60.0)	3(30.0)	1(10.0)
Total	391	80(20.5)	26(32.5)	39(48.8)	15(18.8)

Numbers in parenthesis show %

Table 2. Reproductive performance in the testicular hypoplastic rat

	Bilateral	Unilateral	Normal ¹⁾
No. of males	6	42	2
No. of females mated	20	124	8
No. of conception	0	109	7
No. of delivery	0	107	7
litter size ²⁾	0	10.1±3.4	10.9±1.9

1) Normal siblings in the testicular hypoplastic rat strain.

2) Values represent Mean ± S. D.

No significant differences were seen in all the parameters between normal and unilateral testicular hypoplastic rat groups.

発現し、片側性の場合には左右いずれにも発現した。

Table 1 に片側精巣異常個体を親とした各世代での精巣異常個体発現率を示した。8世代までの391例中80例(20.5%)に精巣異常が認められた。精巣異常は、片側性のものが65例、両側性のものが15例認められ、片側性の異常発現例が多かった。片側性異常では左側異常が39例、右側異常が26例であり、左側異常個体が多く発現した。

8世代までに繁殖に供された片側性および両側性異常小精巣雄ラットの繁殖成績と、対照として同腹兄弟中にみられた表現型上正常な雄ラットの繁殖成績を Table 2 に示した。片側性異常小精巣およびこれらの正常雄ラット群ではいずれも交尾行動が認められ、交配に供した全ての雄において妊性をもつことが確認された。また両

群における雌ラットの受胎率、分娩率および産仔数の間に有意な差は認められなかった。一方両側性異常小精巣雄ラット6匹と雌20匹との交配においては、交尾行動と膣栓の形成は認められたが、全ての交配組合せにおいて同居期間(26～93日間)中に妊娠の成立は認められなかった。

成長：異常小精巣雄ラットならびに同腹の正常雄ラットの成長曲線および異常小精巣の検出週齢を Fig. 2 に示した。成長期を通じ異常小精巣ラットと正常雄ラットの体重に有意な差は認められなかった。また精巣は陰嚢内に下降しており、外見上正常雄ラットと区別し難かった。しかし、陰嚢部の触診では、8週齢頃より精巣の大きさの違いが認められた。

形態学的特徴：片側性異常小精巣ラット1例の生殖器

Fig. 2 Growth curve of male testicular hypoplastic rats and percent incidences for the testicular hypoplasia

Normal male siblings descended from unilateral testicular hypoplastic males.

Percentage of detection : (No. testicular hypoplastic rats detected in each week/Total No. testicular hypoplastic rats) $\times$ 100

() : No. of rats observed.

系諸臓器の形状を Fig. 3 に示した。写真に示した個体では左側精巣の発育不全と同側の精巣上体の萎縮が観察されるが、その他の臓器に異常は認められなかった。解剖された16匹の異常小精巣ラット（両側性6匹、片側性10匹）において精巣の欠損例は認められなかったが、精巣上体の欠損（2匹、臓器数にして2例）、精巣上体の萎縮（10匹、同14例）および精管と精管腺の欠損ないし痕跡（9匹、同11例）が認められた。

Table 3 に異常小精巣ラットおよび同腹正常精巣ラットの解剖成績を示した。両側性異常小精巣ラットでは、精巣、精巣上体、精管、精囊、凝固腺、包皮腺、精管腺、前立腺背葉および副腎の重量が対照群に比較して有意に軽かった。一方片側性異常小精巣ラットでは、対照群と比較して精囊、凝固腺、精管腺、前立腺背葉およ

Fig. 3 Genital organs of an unilateral testicular hypoplastic rat. testis(A), epididymis(B), ductus deference(C), seminal vesicle and coagulating gland(D), dorsal prostate(E), ventral prostate and bladder (F), penis(G) and preputial gland(H).

び副腎の重量は有意に軽く、さらに異常側の精巣、精巣上体および精管の重量も軽かった。なお臓器重量の検索に供されなかった個体についても、肉眼的病理解剖を行ったが、雄では異常小精巣と副生殖器官の発育不全のほかには、特記すべき異常は認められなかった。また雌では第5世代の1例に左卵巢の近位での子宮盲端例を確認したにとどまった。

塗抹標本による精子の検査成績を Table 4 に示した。片側性異常小精巣ラットでは正常側の精巣、精巣上体の標本で全ての検査例において精子像が確認された。異常側の精巣上体の塗抹標本では精子像は確認されなかった。異常側精巣の塗抹標本8例のうち4例では精子は認められず残り4例では精子は存在したが極めて少なかった。両側性の異常小精巣ラットでは全ての検査例にお

Table 3. Average weight of reproductive organs in the adult testicular hypoplastic rat

Organs	Bilateral, testicular hypoplasia	Unilateral testicular hypoplasia		Normal siblings
		Hypoplastic side	Normal side	
Testis (mg)	*668.1±115.6 (12)	*576.7±132.4 (10)	1504.2±168.4 (10)	1501.7±139.7 (22)
Epididymis (mg)	*315.2±101.0 (11)	*195.4± 87.3 (9)	576.5± 61.2 (10)	594.6± 51.2 (22)
Deferent duct (mg)	*82.4± 8.7 (5)	*79.0± 31.1 (6)	100.6± 16.1 (10)	109.0± 15.0 (22)
Seminal vesicle (mg)	*595.3±176.3 (12)	*617.1±253.1 (10)	*807.1±189.6 (10)	1180.3±231.5 (22)
Coagulating gland (mg)	*80.2± 20.5 (12)	*107.6± 29.0 (10)	*109.6± 28.5 (10)	153.5± 62.0 (22)
Preputial gland (mg)	*77.9± 11.1 (12)	96.1± 22.0 (10)	94.5± 20.5 (10)	104.5± 28.7 (22)
Gland of ductus deference (mg)	*17.7± 8.7 (4)	*23.7± 12.7 (7)		62.7± 10.8 (11)
Dorsal prostate (mg)	*337.0± 33.0 (6)	*344.0±104.2 (10)		498.5±113.3 (11)
Ventral prostate (mg)	419.2± 88.0 (6)	464.4±179.8 (10)		590.7±198.7 (11)
Penis (mg)	387.0± 39.8 (6)	397.3± 50.7 (10)		344.3± 19.7 (11)
Hypophysis (mg)	11.3± 1.5 (6)	10.9± 2.3 (10)		10.4± 1.6 (11)
Adrenal gland (mg)	*21.2± 2.8 (12)	*19.7± 4.2 (10)	*20.7± 3.2 (10)	26.8± 3.0 (22)
Body weight (g)	429.0± 31.4 (6)	430.8± 62.0 (10)		435.3± 20.9 (11)
Body length (cm)	24.1± 0.7 (6)	24.6± 1.0 (10)		24.7± 0.5 (11)
Tail length (cm)	17.8± 1.0 (6)	18.3± 1.0 (10)		17.3± 0.6 (11)

Weight of the asymmetrical organs in unilateral testicular hypoplastic rats were placed in the middle column between those for hypoplastic and normal sides.
Number in parenthesis represents No. of samples.
All values are expressed as Mean ± S. D.
*Significant difference from normal siblings at p<0.05

Table 4. Observation on the spermatozoa in testicular and epididymal smears of adult testicular hypoplastic rats

	Testis					Caput Epididymis					Cauda Epididymis				
	—	±	+	++	+++*	—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++
<i>Unilateral Testicular Hypoplastic (8)</i>															
Hypoplastic side	4	2	2	0	0	8	0	0	0	0	8	0	0	0	0
Normal side	0	0	1	5	2	0	0	1	2	5	0	0	0	0	8
<i>Bilateral Testicular Hypoplastic (3)</i>															
Hypoplastic sides	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0

* : Judged according to the description by Imamichi and Agematsu [3]
— : No spermatozoa are found in the entire field of the smear
± : A questionable fragment of spermatozoa is detected in the entire field of the smear.
+ : A few spermatozoa are observed in every microscopic field.
++ : Crowded spots of spermatozoa are observed in several microscopic fields.
+++ : Compactly crowded spermatozoa are observed.
Number in parenthesis represents No. of animals tested.

Fig. 4 Histological observations on the testis of the testicular hypoplastic rat
A : Testis, normal side of T-H rat, stained with hematoxyline eosin (×68)
B : High magnification of A (×680)
C : Hypoplastic testis Most of the seminiferous tubules degenerated severely, but some of them still remained normal (×68)
D : High magnification of B (×680) No spermatogenesis was seen in the degenerated tubules.

いて、左右精巣、精巣上体の頭部および尾部の塗抹標本中に精子像は確認されなかった。

Fig. 4に片側性異常小精巣ラットの正常側と異常側の精巣の組織写真を示した。異常側精巣の精細管では、一部に正常な精細管上皮細胞と精子形成が認められたがほとんどの精細管はその径を減じ、固有膜の肥厚、大部分の精細管上皮細胞の変性、欠損および精子形成不全が観察された。また精細管の間隙を占める Leydig 細胞は萎縮・変性し、一見結合組織様の細胞が増生しているかのような感を呈した。

考 察

著者らの継代した異常小精巣ラットにおいて精巣異常は片側もしくは両側性に認められ、異常精巣は大きさおよび重量が著しく小さい。Gumbreck ら[2]は精巣発育不全雄ラット (Re ラット) と同腹正常雄ラット (NI ラット) の精巣重量を比較し、NI ラットでは約90日齢で最大重量に達するのに対し、Re ラットでは乳仔期より精巣の発達が遅延し、約60日齢で最大重量 (正常精巣の約 1/4) に達し、以後増加することなく成体になると報告している。Moutier ら[4]も Hypodactyly 雄ラットの精巣で Re ラットと同様な傾向 (最大重量期 10 週齢、精巣重量は 12 週齢で正常精巣の約 1/3) を観察している。著者らの異常小精巣ラットでは外部触診による精巣異常の早期検出は 7～10 週齢で可能であるが、成体の精巣の大きさは正常精巣の約 2/5 であった。この値は正常に発育している Wistar-Imamichi ラットの 6～7 週齢の精巣の大きさ[3]に相当する。従って、著者らの異常小精巣ラットでは 8 週齢前後より精巣の発達が停滞するものと推測される。

両側性異常小精巣ラットの場合、正常な交尾行動を示し、膣栓の形成もみられたが、雌ラットを妊娠させることはできなかった。これに対し片側性異常小精巣ラットでは、正常雄ラットに相当する繁殖成績が認められた。片側性異常小精巣ラットでは、正常側の精巣が機能をもつため繁殖能力を保持しているものと考えられる。精巣発育不全ラットの妊性については Gumbreck ら[2]、Moutier ら[4]、武田[7]、遠山ら[9]の報告がみられる。片側性異常小精巣ラットは、妊性という点では片側性陰嚢雄ラットに類似しているが、その精巣は陰嚢内の所定の位置まで下降している。

塗抹標本による精子検査と組織学的観察によれば、異常精巣ではほとんどの場合に精子形成不全であったが、

少量の精子が認められる例もあった (片側性異常小精巣 8 例中 4 例)。Smelser [5]は精巣発育不全雄ラットにおいて 5 ないし 6 個の精原細胞が見られた例外的な 1 例があったが、その他の例では精子形成は全く認められなかったと報告している。Moutier ら[4]は、発育不全精巣において微量の精子の存在を認め、かつ 9～11 週齢の数例において運動性をもつ精子を認めたが、それらの精子はしばしば形態的に異常な精子であったと報告している。著者らのラットにおいては異常精子は確認されなかった。

異常小精巣ラットの異常精巣の組織学的な検索において、精細管径の狭小、精子形成の低下、変性した Leydig 細胞などの所見が特徴的であった。Gumbreck ら[2]は出生時から成体に至るまでの精巣発育不全ラット (Re 系) の精巣を組織学的に検討し、発育不全精巣の精子形成は正常雄ラットに比べて発達が遅れ、数例においては一時的に受精可能な精子形成期像がみられたが、大多数の成体では著者らと同様の組織像であると報告している。

異常小精巣雄ラットの副生殖器は一般に正常雄ラットの副生殖器より小さい傾向があり、特に片側性異常小精巣ラットでは精巣発育不全側の精巣上体や精嚢などの副生殖器が正常精巣側の副生殖器より有意に小さかった。精巣上体あるいは精管においては時に欠損が認められたが、精嚢や凝固腺、前立腺等の副生殖器については欠損例はなかった。生殖系およびそれと発生学的に近縁な泌尿器系の両者の欠損例としては ACI/NS 系統が知られている。鈴木[6]は ACI/NS 系統の腎臓欠損例の雄ラットにおいて低頻度ではあるが、精嚢の欠損および同側の精巣の萎縮を報告している。著者らの異常小精巣ラットにおいては、腎臓もしくは精嚢の欠損を併なう例は観察されなかった。一方、田内ら[8]は高頻度に先天性水腎症を発現する系統を Wistar-Imamichi ラットより継代分離したが、その系統においては逆に精巣異常の合併例は認められていない。

精巣発育不全を伴うラットの体成長について Smelser[5]、Moutier ら[4]は正常であることを観察した。Re 系では Gumbreck ら[2]は同腹の正常雄ラットと詳細に比較した結果、生後 5 日目から 100 日目にかけてわずかながら成長速度が遅いが、110 日目では正常ラットの体重に追いつくことを観察した。異常小精巣雄ラットにおいては観察期間を通じ同腹の正常雄ラットの体重との間に有意差は認められなかった。本系統の精巣発育不全を誘発する因子は、体成長には影響を及ぼさ

ないと言えよう。

精巣発育不全を誘発する遺伝要因について、Smelser [5]はメンデル比に従う単純劣性遺伝子を、Moutier[4]らは劣性遺伝様式をとる指欠損遺伝子（遺伝子記号 hd ）の精巣に対する多面作用を、また Gumbreck ら[2]は優性遺伝様式をとる体毛着色制限遺伝子（遺伝子記号 H^e ）の多面作用によることを報告しているが、これらの遺伝子はいずれもが常染色体性の単一遺伝子である。本系統の精巣異常発現の遺伝様式を確めるためには今後さらに検討が必要である。

我々は現在本系統の継代、繁殖および特性の調査を継続中である。

要 約

Wistar-Imamichi ラットにおいて偶然発見された 1 匹の異常小精巣ラットを兄妹交配により 8 代継代し、次の成績を得た。1. 異常小精巣雄ラットは正常牡相を呈し、発育、精巣の陰嚢内への下降とも正常で、外観からは異常の有無を判別し難いが、陰嚢部の触診によれば 8 週齢前後より精巣異常の検出が可能であった。2. 本系統での精巣異常は 391 例中 80 例（20.5%）に発現し、片側性又は両側性である。異常個体 80 例中右側精巣異常は 26 例（32.5%）、左側異常 39 例（48.8%）、両側異常 15 例（18.8%）であった。3. 片側性異常雄ラットでは正常雄ラットに相当する繁殖成績が得られた。両側性異常雄ラットでは、交尾行動は正常であったにもかかわらず交配結果は不妊であった。4. 異常小精巣雄ラットは正常雄ラットに比べて精巣が小さい（正常精巣の約 2/5）ばかりでなく、異常精巣に付随する精巣上体や精嚢などの副生殖器官が小さい傾向がみられ、しばしば精巣上体ある

いは精管の欠損が認められた。5. 成熟時における異常小精巣の塗抹標本もしくは組織学的検索によれば、一部の例外を除きほとんどの場合に精子形成不全が認められた。しかし、片側性異常小精巣ラットにおける外観上正常な精巣では、精子形成過程像が観察された。

本研究の組織所見について御助言を頂いた東北大学農学部菊池建機博士に深く感謝します。

文 献

- [1] 藤田博文・若藤靖国・上松嘉男・今道友則（1980）。Wistar-Imamichi ラットの乳頭数の変異について、実験動物, **29**, 61-66
- [2] Gumbreck, L., Stanley, A. J., Allison, J. E., and Easley, R. B. (1972). Restriction of color in the rat with associated sterility in the male and heterochromia in both sexes. *J. Exp. Zool.*, **180**, 333-350
- [3] 今道友則・上松嘉男（1962）。HCG の造精機能促進作用に関する研究ならびに精子形成作用の検定法についての基礎的検討, 日獣大紀要, **11**, 31-46.
- [4] Moutier, R., Toyama, K., and Charrier, M. F. (1973). Hypodactyly a new ressesive mutation in the Norway rat. *J. Hered.*, **64**, 99-100
- [5] Smelser, G. K. (1936). Spontaneous sterility in the male rat. *Anat. Rec.* **64** (Suppl.), 53.
- [6] 鈴木一嘉（1974）。近交系 ACI/NS ラットの繁殖成績について。実験動物, **23**, 129-136.
- [7] 武田 満（1959）。Rat における遺伝的 cryptorchidism の偶発例。実験動物, **8**, 184
- [8] 田内清憲・鈴木勝士・今道友則（1980）。高頻度に先天性水腎症を発生するラットの育成とその形態学的特徴。先天異常, **20**, 1-6
- [9] 遠山紀代子・今道友則（1971）。ラットにおける hydro-testis（水腫様精巣）に関する基礎的研究 I。交配実験による hydro-testis ラットの不妊性の確認。日獣大紀要, **19**, 17-20