Establishment of Hyperbilirubinuria Rat Mutant — A New Animal Model for Jaundice —

Atsushi KAWAGUCHI, Yoshimi NOZAKI*, Satoru HOSOKAWA**,
Osamu TAGAYA**, Takashi, MIKAMI**,
and Tsuneo WAKABAYASHI**

BMR Laboratories Inc., 4,388 Hagiwara, Makita, Kamiishizu-cho, Yoro-gun, Gifu 503-16,
**Kawashima Co., Ltd.*, 2-1 Takehaya-machi, Kawashima-cho, Hashima-gun,
Gifu 501-61, and ***Eizai Co., Ltd.*, 1 Takehaya-machi,
Kawashima-cho, Hashima-gun, Gifu 501-61, Japan

(Received 14 May 1993/Accepted 20 July 1993)

A new animal model for jaundice, a hyperbilirubinemic rat mutant (EHBR, Eisai hyperbilirubinuria rat), was established from Sprague-Dawley rats. Hyperbilirubinemia was inherited as an autosomal recessive trait. The gene manifesting jaundice was named "hyb". Homozygotes developed jaundice immediately after birth, and a high bilirubin concentration was detected in plasma and urine. The plasma bilirubin levels were high in the neonatal period, but they decreased from 6 to 10 weeks old. In male homozygotes, plasma bilirubin levels increased rapidly until about 40 weeks, and decreased thereafter. Female homozygotes showed slightly high plasma bilirubin levels until 56 weeks, then increased rapidly thereafter. At 72 weeks, the plasma bilirubin level of females was comparable to that of males. About 80 percent of the plasma bilirubin was conjugated. Plasma biochemistry demonstrated the increase of total cholesterol and total bile acid in the homozygotes. Histopathologically, the homozygote was characterized by brown pigment in the hepatocytes, and glomerular lesions with mesangial expansion. From these findings it was considered that EHBR might be a useful animal model for studying constitutional conjugated hyperbilirubinemia and bilirubin metabolism.—KEY WORDS : aging, animal model, hyperbilirubinemia, hyperbilirubinuria, rat

高ビリルビン尿症ラット (EHBR, Eisai Hyperbilirubinuria Rat) の 確立とその病態について

川口敦司・野崎良美*・細川 暁**・多賀谷 修**
見上 孝**・若林庸夫**

株式会社ビー・エム・アール研究所

*株式会社カワシマ商事

**エーザイ株式会社

ビリルビン代謝異常の結果としてもたらされる黄疸は、主として肝細胞の先天的、後天的機能異常に基づくものである。ヒトでは先天的ビリルビン代謝異常として、間接型高ビリルビン血症を示す Gilbert 症候群

[2,8] および Cligler-Najjar 症候群 [1,4], また直接型高ビリルビン血症を示す Rotor 症候群 [6,24] および Dubin-Johnson 症候群 [5,25] 等の体質性黄疸が報告されている。一方、動物においてもいくつかのビリ

Table 1. Incidence of jaundice rats from each types of phenotype from F₉ to F₁₇ generation

Phenotype of parents Sire × Dam	No. of pair	No. of offspring	No. of jaundice rats	
			Male/Female	Total (%)
Normal × Normal	10	108	12 / 13	25 (23.1)
Jaundice × Normal	24	272	62 / 57	119 (43.8)
Normal × Jaundice	6	48	15 / 9	24 (50.0)
Jaundice × Jaundice	4	34	23 / 11	34 (100.0)

Generation

Fig. 1. Pedigree chart of EHBR at the time of discovery of the jaundice rat

ルビン代謝異常を示す動物が知られており[3,11,17], これらはヒトの体質性高ビリルビン血症のモデル動物として,あるいはビリルビン代謝の研究に重要な役割を果たしている。

EHBR は, 1983年にエーザイ株式会社に発見された高ビリルビン血症を特徴とする自然発症ミュータントラットである[19]。我々は既に, EHBR においてはビリルビン同様, 有機陰イオン物質である BSP, ICG などの肝細胞から胆汁中への排泄過程に障害を有していることを報告している[12]。今回, EHBR を近交系として確立したので, EHBR の発見の経緯および遺伝的特徴, 加齢に伴う病態の推移, さらに疾患モデル動物としての有用性について報告する。

発見の経緯および遺伝解析

1983年, エーザイ株式会社安全性研究部で維持していた Slc : SD を起源とする旋回ラット (ETR) [18] の F₈ 世代目の個体の中に, 生後 1 日より黄疸症状を呈する個体を発見した (Fig. 1)。それらの個体の黄疸症状は持続的であり, 異常行動や発育障害は全く観察されなかった。これらの個体を用いて兄妹交配を行った結果, 5 母体中 4 母体から高ビリルビン血症を呈す

る新生児を得た。以後, 兄妹交配を続け, 高ビリルビン血症を特徴とする新たなミュータントラットを近交系として確立し, 高ビリルビン尿症ラット (EHBR, Eisai hyper-bilirubinuria rat) と命名した。現在, EHBR は F₃₉ 世代まで世代更新されている。

遺伝様式を検索するため, F₉ ~ F₁₇ 世代までの繁殖成績から得られた黄疸個体の出現頻度を Table 1 に示した。黄疸個体の出現頻度は [正常雄] × [正常雌] で 23.1%, [黄疸雄] × [正常雌] および [正常雄] × [黄疸雌] でそれぞれ 43.8%, 50.0%, また [黄疸雄] × [黄疸雌] で 100.0% であり, 出現頻度に著しい性差は認められなかった。従って, EHBR の黄疸形質は常染色体上単一劣性遺伝様式を示すことが明らかとなり, 黄疸個体はホモ接合体, 正常個体はヘテロ接合体であると考えられた。この黄疸形質を示す遺伝子を “*hyb*” とした。

材料および方法

1. 供試動物: エーザイ株式会社安全性研究部にて維持されている 4 週齢の EHBR ホモ (*hyb/hyb*) およびヘテロ (*hyb/+*) 雌雄各 10 匹を用いた。動物の飼育は温度 23 ± 1°C, 湿度 55 ± 5%, 照明時間 7:00 ~ 19:00 に

Fig. 2. Growth curves of EHBR

Fig. 3. Changes of plasma bilirubin concentrations in homozygous EHBR with aging (T-Bil; Total Bilirubin D-Bil; Direct Bilirubin)

設定された動物室にて飼育した。飼料は、小動物用固形飼料 (MF, オリエンタル酵母工業株式会社) を、また飲料水は塩素添加後紫外線照射殺菌した水を自由に摂取させた。

2. 血液生化学的検査：4～72週齢まで経時的に採血を実施し、遠心分離後得られた血漿を用いて総ビリルビン、直接型ビリルビン、総コレステロール、総胆汁酸、ALP, GOT, GPT, LDH, 総タンパク、リン脂質、中性脂肪、BUN, クレアチニン、尿酸 (日立736-40自動分析機) を測定した。

3. 血液学的検査：8～72週齢まで経時的に採血を実施し、赤血球数、ヘモグロビン濃度 (Sysmex E-3000

Fig. 4. Changes of urinary bilirubin excretion values in homozygous EHBR with aging

自動分析機), および網赤血球数 (Hematrak Model-590自動分析機) を測定した。

4. 尿中ビリルビン排泄量：4～72週齢まで経時的に採尿を実施した。採尿は、ラット用採尿ケージにて動物を個別に収容し、14時間尿を採取し、尿中ビリルビン濃度 (日立736-40自動分析機) を測定した。

5. 病理組織学的検査：3, 5, 8, 11および18ヵ月齢のホモ (*hyb/hyb*) およびヘテロ (*hyb/+*) の雌雄各2～5例を用いた。動物はペントバルビタールナトリウム麻酔下にて放血致死させ、肝臓および腎臓を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。常法に従いパラフィン切片を作成後、PAS, PAM, Schmorl, 鉄, 胆汁染色およびメラニン染色を実施した。5ヵ月齢の一部の個体については2%グルタルアルデヒドおよび1%オスミウム液で固定後、常法に従って超薄切片を作成し、電顕観察を実施した。

6. 統計解析：数値データの統計解析には、Student's t-testを用いた。

成 績

1. 体重の推移：Fig. 2にEHBRの体重曲線を示した。雄の *hyb/hyb* では33週齢以降 *hyb/+* に比べ有意な低下を示したが、雌では、*hyb/hyb* と *hyb/+* の間には差は認められなかった。

2. 血漿中および尿中ビリルビン値の推移：血漿中総ビリルビン値は、*hyb/hyb* において、雌雄ともに新生児期では約3 mg/dlと高い値を示したが、6～10週齢

Table 2. Hematological values in EHBRs with aging

Item	Sex	Genotype	Age (weeks)				
			8	16	24	48	72
RBC ($\times 10^4/\mu\ell$)	Male	<i>hyb/+</i>	754.9 $\pm$ 13.0	860.5 $\pm$ 39.7	908.9 $\pm$ 8.4	908.8 $\pm$ 12.2	564.6 $\pm$ 64.9
		(n)	(10)	(10)	(10)	(8)	(5)
	Female	<i>hyb/hyb</i>	716.3 $\pm$ 11.0	835.1 $\pm$ 9.6	818.3 $\pm$ 21.9**	764.9 $\pm$ 26.7**	585.0 $\pm$ —
		(n)	(10)	(8)	(8)	(8)	(1)
Hb (g/dℓ)	Male	<i>hyb/+</i>	776.6 $\pm$ 10.2	852.4 $\pm$ 7.3	844.6 $\pm$ 4.5	858.2 $\pm$ 9.5	745.9 $\pm$ 31.0
		(n)	(10)	(10)	(10)	(10)	(7)
	Female	<i>hyb/hyb</i>	753.8 $\pm$ 7.0	812.6 $\pm$ 6.8**	816.2 $\pm$ 7.0**	775.7 $\pm$ 20.6**	637.2 $\pm$ 45.4
		(n)	(10)	(10)	(9)	(9)	(5)
Retics (%)	Male	<i>hyb/+</i>	14.6 $\pm$ 0.3	16.6 $\pm$ 0.1	16.7 $\pm$ 0.1	16.5 $\pm$ 0.2	10.2 $\pm$ 1.4
		(n)	(10)	(10)	(10)	(8)	(5)
	Female	<i>hyb/hyb</i>	13.6 $\pm$ 0.2	15.7 $\pm$ 0.1**	15.8 $\pm$ 0.1**	14.0 $\pm$ 0.5**	10.8 $\pm$ —
		(n)	(10)	(8)	(8)	(8)	(1)
RBCs (%)	Male	<i>hyb/+</i>	15.2 $\pm$ 0.2	16.2 $\pm$ 0.1	16.1 $\pm$ 0.1	16.0 $\pm$ 0.2	14.1 $\pm$ 0.6
		(n)	(10)	(10)	(10)	(10)	(7)
	Female	<i>hyb/hyb</i>	14.2 $\pm$ 0.2	15.3 $\pm$ 0.1**	15.3 $\pm$ 0.1**	14.4 $\pm$ 0.4**	11.8 $\pm$ 0.9*
		(n)	(10)	(10)	(9)	(9)	(5)
Hb (g/dℓ)	Male	<i>hyb/+</i>	3.6 $\pm$ 0.6	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.1	4.5 $\pm$ 1.9
		(n)	(10)	(10)	(10)	(8)	(5)
	Female	<i>hyb/hyb</i>	4.8 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.3**	2.3 $\pm$ 0.2**	2.0 $\pm$ 0.3**	1.0 $\pm$ —
		(n)	(10)	(8)	(8)	(8)	(1)
Retics (%)	Male	<i>hyb/+</i>	1.2 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.1
		(n)	(10)	(10)	(10)	(10)	(7)
	Female	<i>hyb/hyb</i>	2.2 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.4*
		(n)	(10)	(10)	(9)	(9)	(5)

RBC : red blood cells, Hb : hemoglobin concentration, Retics : reticulocytes
 * : P<0.05 ** : P<0.01 Compared with genotype *hyb/+* Mean $\pm$ S.E.

頃まで低下傾向を示した(約1.5mg/dℓ)。その後、雄においては40週齢頃まで加齢にともない急激に増加し(約7mg/dℓ)、それ以降は低下傾向を示した。また、雌においては10週齢以降やや増加した後13週齢で値はほぼプラトーに達し(約2mg/dℓ)、56週齢以降急激に増加し、72週齢には雄とほぼ同じ値を示した(Fig. 3)。総ビリルビンのうち直接型ビリルビンはいずれの週齢においても約60～80%を占め、加齢による変動はみられなかった。一方、*hyb/+*においては、雌雄ともいずれの週齢においても血漿中ビリルビン値は0.1～0.7mg/dℓと低値を示した。

尿中ビリルビン排泄量の推移をFig. 4に示した。ビリルビン排泄量は、*hyb/hyb*において雄では40週齢頃まで増加を続け、それ以降低下傾向を示した。雌では雄に比べて増加の程度は緩やかであったが、64週齢頃まで増加し、72週齢でやや低下した。一方、*hyb/+*では、雌雄ともいずれの週齢においても低値(0.008

～0.048mg/14時間)を示した。

3. ビリルビン以外の血液生化学的パラメータの推移：総コレステロールは、*hyb/hyb* および *hyb/+*の雌雄いずれも20週齢以降加齢に伴い上昇したが、その程度は*hyb/hyb*でより著明であった(Fig. 5)。リン脂質も同様の変化を示した。中性脂肪は、雄では加齢による変化および*hyb/hyb*と*hyb/+*の間の差は見られなかった。しかし、雌においては*hyb/hyb*および*hyb/+*のいずれも20週齢以降加齢に伴い上昇したが、*hyb/hyb*と*hyb/+*の間に差は認められなかった。

総胆汁酸は、雌雄ともいずれの週齢においても、*hyb/hyb*は*hyb/+*の2倍近い値を示した(Fig. 6)。

ALP, GOT, GPT, LDH, 総タンパク, BUN, クレアチニンおよび尿酸については、雌雄いずれも*hyb/hyb*と*hyb/+*の間に差は認められず、加齢による変化も明らかでなかった。

4. 血液学的パラメータの推移：雌雄とも各週齢にお

Fig. 5. Changes of plasma total cholesterol concentrations in EHBR with aging

Fig. 6. Changes of plasma total bile acid concentrations in EHBR with aging

いて、*hyb/hyb* では赤血球数およびヘモグロビン濃度の減少、網赤血球数の増加が軽度認められたが、加齢により増悪することはなかった (Table 2)。*hyb/+* においては、雌雄とも正常値を示した。

5. 病理所見：*hyb/hyb* ではいずれの週齢においても肉眼的に皮下組織は黄色調を呈し、肝と腎は肥大して緑色を帯び、重量の増加が認められた。肝の組織所見では、すべての *hyb/hyb* で軽度な核の大小不同とともに HE 染色で黄褐色を呈する肝細胞質内色素顆粒が散在性に認められた。この顆粒は PAS 反応弱陽性、PAM 染色および Schmorl 反応陽性、鉄胆汁染色およびメラニン染色陰性であり、リポフスチンに類似していた。本顆粒は加齢に伴って増加する傾向がみられた

(Fig. 7)。電顕的には、顆粒は限界膜明瞭でミトコンドリアと同等あるいはその数倍大のライソゾーム由来の小体として認められ、電子密度の高い微細顆粒状の基質と電子密度の極めて高い大小様々な小顆粒から構成されていた (Fig. 8)。毛細胆管の多くはほぼ正常な形態を示していたが、一部微絨毛を失い拡張するものも認められた。

腎臓では検索したすべての *hyb/hyb* 個体にメサンギウム領域の拡大を主徴とする巣状の糸球体病変が認められた。糸球体病変は、3ヵ月齢ではメサンギウム領域の軽度な拡大としてみられたが (Fig. 9)、5ヵ月齢ではメサンギウムの増生、硬化、癒着、小半月体形成など明らかな病変が20~30%の糸球体に認められた。また、8ヵ月齢ではほとんどの糸球体に病変が認められるなど、加齢に伴い増悪する傾向を示した。5ヵ月齢の *hyb/hyb* 個体の糸球体の電顕像では、パラメサンギウム領域を中心に免疫複合体と考えられる高電子密度物質の沈着が認められた (Fig. 10)。

考 察

高ビリルビン血症を呈し、ビリルビンを高濃度に尿中に排泄するラット (EHBR) を発見・分離し、その近交系を確立した。EHBR の高ビリルビン血症の形質は、常染色体上単一劣性遺伝様式を示した。

hyb/hyb は、生後1日目より黄疸症状を呈し、生涯にわたり持続した。これまで *hyb/hyb* の黄疸の原因として、ビリルビンの肝細胞から胆汁中への排泄過程の障害が示唆されている [12]。今回の検索においても、血液学的に *hyb/hyb* では赤血球の減少が見られたが、その程度は極めて軽度であり、赤血球破壊に伴うビリルビンの過剰産生が黄疸の直接的原因ではないと考えられた。

hyb/hyb の血漿中ビリルビン濃度は加齢に伴い特徴的な推移を示した。即ち、雌雄いずれも新生児期に高値を示し、6~10週齢頃一旦低下した後再び増加した。その増加の程度は雄においてより著明であった。また、雄では40週齢以降低下したが、雌では56週齢以降逆に急増し、72週齢では雌雄ほぼ同様の値を示した。以上の如く、雌雄ともビリルビンが低下した時期はラットの性成熟期と一致していること、再上昇の程度に性差が認められたこと、更に高週齢でのビリルビン変動を示した時期はラットの性機能低下時期とほぼ一致していること等から、*hyb/hyb* の高ビリルビン血症には性

ホルモンの影響が関与しているものと推察された。これまで、性ホルモンであるエストロゲン投与により、胆汁流量の低下や、胆汁排泄の障害が報告されている [9, 15, 16, 20]。しかし *hyb/hyb* では、血漿中および尿中ビリルビン値は、雌に比較し雄個体において高値を示した。従って、EHBR の黄疸にはエストロゲン以外の性ホルモンの関与が示唆される。

肝臓の病理学的検索においては、胆汁うっ滞を示す変化はいずれの週齢においても見られなかった。しかし、検査したすべての *hyb/hyb* の肝に出現した色素顆粒が特徴的であった。本顆粒は大部分が高電子密度の円形小体や脂肪様滴から構成されるリポフスチン顆粒とは形態的に異なるライソゾーム由来の顆粒であり、メラニン染色陰性であることを除けばヒトの Dubin-Johnson 症候群の肝細胞にみられる色素顆粒 (DJS 顆粒) に類似していた。*hyb/hyb* では血液生化学的にコレステロール、総胆汁酸などの増加が認められ、ビリルビンのみならず種々の物質の排泄障害が示唆される。本顆粒は加齢にともなって増加する傾向を示したことから、種々の物質の排泄障害を反映するものであると考えられる。

腎臓では、メサングウム領域の拡大を主徴とした糸球体病変がみられた。本糸球体病変については、メサングウム領域に IgG, IgA の沈着が認められており、IgA 腎症に類似していることが報告されている [12]。肝臓は、血中の IgA-Immune complex の除去を司る主要な臓器であり [22]、肝硬変等の慢性肝疾患では、血中の Immune complex の除去機能が障害され、その結果、二次的に IgA 腎症を併発することが報告されている [7, 10, 14, 21, 23, 26]。EHBR でみられた腎糸球体病変の病理発生は不明であるが、EHBR の肝機能異常と密接に関連している可能性が示唆される。本糸球体病変は加齢に伴い増悪するものであったが、今後の詳細な検討が必要であろう。

近年、Jansen らは遺伝性の高ビリルビン血症を呈する Wistar 系由来の TR⁻ラットを報告している [13]。TR⁻ラットは肝から胆汁への有機陰イオンの排泄障害を有し、EHBR と類似した病態を示している。しかし、TR⁻ラットでは EHBR のような加齢に伴うビリルビンの性差、ICG 排泄の遅延、さらに腎の組織学的変化などは報告されていない。従って、EHBR は TR⁻ラットとは明らかに異なるミュータントラットであると考えられる。

以上のことから、EHBR は、ヒトの体質性黄疸のモ

デル動物としてのみならず、ビリルビン代謝、さらに胆汁うっ滞などの研究に極めて有用なモデル動物であると考えられた。

要 約

Slc : SD を起源とし高ビリルビン血症を特徴とする新しいミュータントラット (高ビリルビン尿症ラット [EHBR, Eisai Hyperbilirubinuria Rat]) を発見、分離し、近交系として確立した。遺伝分析により EHBR の黄疸形質は常染色体上単一劣性遺伝様式を示し、この遺伝子を "*hyb*" とした。EHBR の遺伝子型ホモ個体は、生後 1 日目より黄疸症状を呈し、血漿中および尿中にビリルビンが高濃度に検出された。血漿中総ビリルビン値は、*hyb/hyb* において、雌雄ともに新生児期では高い値を示したが、6~10 週齢頃まで低下傾向を示した。その後、雄においては 40 週齢頃まで加齢にともない急激に増加し、それ以降は低下傾向を示した。また、雌においては 10 週齢以降やや増加した後 13 週齢で値はほぼプラトーに達し、56 週齢以降再び急激に増加し、72 週齢には雄とほぼ同じ値を示した。血漿中ビリルビンのうち約 60~80% は直接型ビリルビンであった。血液生化学的には、総コレステロールおよび総胆汁酸の増加が認められ、病理組織学的には肝に特有色素顆粒の出現と、メサングウム領域の拡大を主体とした腎糸球体病変が特徴的であった。以上、EHBR は直接型高ビリルビン血症を特徴とする新たなミュータントであり、ヒトの体質性黄疸のモデルとして、さらにビリルビン代謝の研究用動物として有用な動物であると考えられた。

文 献

- [1] Arias, I. M. (1962). Chronic unconjugated hyperbilirubinemia without overt signs of hemolysis in adolescents and adults. *J. Clin. Invest.*, **41**, 2233-2245.
- [2] Black, M. and Billing, B. H. (1969). Hepatic bilirubin UDP glucuronyl transferase activity in liver disease and Gilbert's syndrome. *N. Engl. J. Med.*, **280**, 1266-1271.
- [3] Corneius, C. E., Arias, I. M., and Osburn, B. I. (1965). Hepatic pigmentation with photosensitivity: a syndrome in Corriedale sheep resembling Dubin-Johnson syndrome in man. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **146**, 709-713.
- [4] Crigler, J. F. and Najjar, V. (1952). Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus. *Pediatrics*, **10**, 169-180.
- [5] Dubin, I. N. and Johnson, F. B. (1954). Chronic idiopathic jaundice with unidentified pigment in liver

- cells. *Medicine*, **33**, 155-197
- [6] Edwards, R. H. (1975). Inheritance of the Dubin-Johnson-Sprinz syndrome. *Gastroenterology*, **68**, 734-749.
- [7] Feizi, T. (1968). Immunoglobulins in chronic liver diseases. *Gut*, **9**, 193-198.
- [8] Foulk, W. T., Butt, H. R., Owen, C. A. Jr., Whitcomb, F. F. Jr., and Mason, H. L. (1959). Constitutional hepatic dysfunction, Gilbert's disease: Its natural history and related syndromes. *Medicine*, **38**, 25-46.
- [9] Gallagher, T. F., Mueller, M. N., and Kappas, A. (1966). Estrogen pharmacology. IV. Studies of the structural basis for estrogen-induced impairment of liver function. *Medicine*, **45**, 471-479.
- [10] Gormly, A. A., Smith, P. S., Seymour, A. E., Clarkson, A. R., and Woodroffe, A. J. (1981). IgA glomerular deposits in experimental cirrhosis. *Am. J. Pathol.*, **104**, 50-54.
- [11] Gunn, C. K. (1938). Hereditary acholuric jaundice in a new mutant strain of rats. *J. Hered.*, **29**, 137-139.
- [12] Hosokawa, S., Tagaya, O., Mikami, T., Nozaki, Y., Kawaguchi, A., Yamatsu, K., and Shamoto, M. (1992). A new rat mutant with Chronic Conjugated Hyperbilirubinemia and renal glomerular lesions. *Lab. Anim. Sci.*, **42**, 27-34.
- [13] Jansen, P. L. M., Peters, W. H., and Lamers, W. H. (1985). Hereditary chronic conjugated hyperbilirubinemia in mutant rats caused by defective hepatic anion transport. *Hepatology*, **5**, 573-579.
- [14] Kaartinen, M. (1978). Liver damage in mice and rats causes tenfold increase of blood immunoglobulin A. *Scand. J. Immunol.*, **1**, 519-522.
- [15] Kottra, L. L. and Kappas, A. (1966). Estrogen pharmacology. III. Effect of estradiol on plasma disappearance rate of sulfobromophthalein in man. *Arch. Intern. Med.*, **117**, 373.
- [16] Kreek, M. J., Peterson, R. E., Slesinger, M. H., and Jeffries, G. H. (1967). Influence of ethinyl estradiol-induced cholestasis on bile flow and biliary excretion of estradiol and bromosulfophthalein by the rat. *J. Clin. Invest.*, **46**, 1080.
- [17] Mia, A. S., Gronwall, R. R., and Cornelius, C. E. (1970). Bilirubin 14C turnover studies in normal and mutant Southdown sheep with congenital hyperbilirubinemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **133**, 955-959.
- [18] Mikami, T., Tagaya, O., Nozaki, Y., Hosokawa, S., Nakura, T., Mori, H., Kondou, S., Matubara, Y., and Ohgoh, T. (1986). The character of a new mutant in rats with turning behavior. *Cong. Anom.*, **26**, 251.
- [19] Mikami, T., Nozaki, Y., Tagaya, O., Hosokawa, S., Nakura, T., Mori, H., Kondou, S., Matubara, Y., and Ohgoh, T. (1986). The character of a new mutant in rats with hyperbilirubinuria syndrome. *Cong. Anom.*, **26**, 250-251.
- [20] Mueller, M. N. and Kappas, A. (1964). The influence of estradiol and estrion on hepatic disposal of sulfobromophthalein (BSP) in man. *J. Clin. Invest.*, **43**, 1905.
- [21] Nakamoto, Y., Iida, H., Kobayashi, K., Dohi, K., Kida, H., Hattori, N., and Takeuchi, J. (1981). Hepatic glomerulonephritis. Characteristics of hepatic IgA glomerulonephritis as the major part. *Virchows. Arch. Pathol. Anat.*, **392**, 45-54.
- [22] 名倉 宏 (1986). 免疫機構における IgA の役割と腎疾患. *病理と臨床*, **4**, 572-576.
- [23] Rank, J. and Wilson, D. (1983). Changes in IgA following varying degrees of biliary obstruction in the rat. *Hepatology*, **3**, 241-247.
- [24] Rotor, A. B., Manaham, L., and Floretin, A. (1948). Familial nonhemolytic jaundice with direct van den Bergh reaction. *Acta Med. Phi.*, **5**, 37-48.
- [25] Sprinz, H. and Nelson, R. S. (1954). Persistent non-hemolytic hyperbilirubinemia associated with lipochrome-like pigment in liver cells. Report of four cases. *Ann. Intern. Med.*, **41**, 953-962.
- [26] Woodroffe, A. J., Gormly, A. A., McKenzie, P. E., Wootton, A. M., Thompson, A. J., Seymour, A. E., and Clarkson, A. R. (1980). Immunologic studies in IgA nephropathy. *Kidney Int.*, **18**, 366-374.

Explanation of Figures

Fig. 7. The liver of male homozygote in 3-month old (7a) and 8-month old (7b). Arrows indicate the hepatocytic pigments. Many hepatocytic pigments can be seen in 8-month old homozygote. PAM. $\times 180$

Fig. 8. Electron micrograph of the hepatocytic pigments in a 5-month male homozygote $\times 11,000$

Fig. 9. Light micrographs of the glomerulus of 3-

month EHBR. a) No abnormal findings were recognized in male heterozygotes. PAM. $\times 220$. b) The glomerulus of a male homozygote is enlarged with mesangial expansion and proliferation. PAM. $\times 220$

Fig. 10. Electron micrograph of the glomerulus in a 5-month male homozygote. Arrows indicate paramesangial electron dense deposits. $\times 7,000$

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.