— Note —

Effects of Sex Hormone on the Dilatation of Urinary Tubule and Acidophil Body in NON Mice

Hitomi SAHATA, Syusaku SUZUKI*, Akio AGO**, Hiroharu MIFUNE***, and Hiroshi SAKAMOTO****

*Shimane Insutitute of Helth Science, 223-7 Enya-cho, Izumo-shi, Shimane 693, *Insutitute of Laboratory Animal Sciences, Faculty of Medicine, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima-shi, Kagoshima 890, **Institute of Experimental Animals Insernal Medicine, Shimane Medical University, 89-1 Enya-cho, Izumo-shi, Shimane 693, ***Institute of Animal Experiment, Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-machi, Kurume-shi, Fukuoka 830, and ****Laboratory of Veterinary Surgery, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima-shi, Kagoshima 890, Japan*

(Received 1 February 1994/Accepted 10 May 1994)

The influences of sex hormones on the dilatation of the urinary tubules and acidophil bodies were histologically investigated in NON (Non-Obese Non-diabetic) mice. Although the dilatation of the proximal tubules and acidophil bodies in NON mice were observed only in female but not in male, a slight dilatation and a few bodies were also observed in castrated male NON mice. Moreover, in ovariectomized female NON mice the dilatation and bodies were less compared with intact female NON mice. Estradiol administration induced prominent dilatation and numerous acidophil bodies, while the administration of testosterone showed a complete preventive effect. Therefore, it is suggested that the dilatation of the tubules and the acidophil bodies can be profoundly influenced by sex hormones.—KEY WORDS : acidophil bodies, dilatation of the proximal tubules, NON mice, sex hormone

NON マウスにおける腎尿細管拡張および酸好性小体の 出現に及ぼす性ホルモンの影響

佐畑ひとみ・鈴木秀作*・吾郷昭夫**
御船弘治***・坂本 紘****

財団法人島根難病研究所
*鹿児島大学医学部附属動物実験施設
**島根医科大学医学部附属動物実験施設
***久留米大学医学部動物実験センター
****鹿児島大学農学部家畜外科学教室

NON (Non-Obese Non-diabetic) マウスは I 型糖尿病のモデルとして知られている NOD (Non-Obese

Diabetic)マウスの垂型であり、顕性糖尿は発症しないが耐糖能異常を示すことから、II型糖尿病のモデルとしての有用性が検討されている。著者らは、このNON系統の雌マウスにおいてのみ、腎臓の近位尿細管に拡張がおこり、更に酸好性でPAS陽性の小体が出現し、これらが加齢と共に顕著になることを指摘した。そしてこれらには性ホルモンが関与している可能性が考えられた。本報告では、更にNONマウス雄の精巣摘除、雌の卵巣摘除、それらに雌性ホルモンあるいは雄性ホルモンを投与することによって、拡張と小体の出現に性ホルモンが影響するか否かについて検討した。

実験には塩野義製薬研究所由来で、島根医科大学附属動物実験施設にて飼育繁殖を行ったNONマウスの雌雄計280匹を使用した。飼育温度は $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、照明は12時間(8~20時)で、飼料は高圧蒸気滅菌した固形飼料(日本クレアCE-2)、飲水は水道水を自由に摂らせた。飼育は1ケージ(175×45×125mm)に5匹収容して行った。実験は雄マウス群として、無処置群、精巣摘除群、無処置及び精巣摘除に加えてEstradiol benzoateを投与した群(以下Eb群)、Testosterone propionateを投与した群(以下Tp群)の6群を設定し、各群それぞれ5~10匹とした。なお、精巣摘除は30日齢時に、ペントバルビタール麻酔下で腹部正中切開により行った。雌マウス群として、無処置群、卵巣摘除群、無処置及び卵巣摘除Tp群としてそれぞれ10匹を配した。卵巣摘除は30日齢時にペントバルビタール麻酔下で背部切開により行った。性ホルモン投与の為に、雄性ホルモンEstradiol(β -estradiol 3-benzoate:和光純薬, Lot No. TLM7876)は0.02 mg/0.1mlの割に、また雄性ホルモンTestosterone(testosterone propionate:和光純薬, Lot No. KPL 1689)は1 mg/0.1mlの割にごま油に溶解した。投与は、それぞれ30日齢から120日齢および150日齢まで週1回頸部皮下に投与した。マウスは60, 90, 120および150日齢でペントバルビタール(ソムノペンチール)麻酔後に放血屠殺した。腎臓をブアン固定後、6 μm のパラフィン切片とし、hematoxylin-eosin (HE), Masson trichrome (MT) 染色, periodic-acid-Schiff (PAS) 反応を行い観察した。

無処置群

雄マウスでは60, 90, 120, 150日齢のいずれにも尿細管の拡張と小体は認められなかった。雌マウスでは、60日齢以降、弱い拡張が出現しはじめ、90, 120日齢と加齢と共に明瞭となった(Fig. 1.)。拡張した尿細管

の管腔内および細胞質内には、エオジン好性でPASに強く反応し、MT染色で青色に染まる大小不同の酸好性の小体が多数観察された(Fig. 2.)。150日齢になると拡張は更に著しく、小体も増加した。拡張した尿細管の細胞表面にはPAS陽性の刷子縁が明瞭に認められることから、本部位は近位尿細管と考えられる。

精巣および卵巣摘除群

精巣摘除60日齢では拡張および小体は見られなかったが、90日齢では一部の近位尿細管に弱い拡張と小数の小体が観察され始めた。120日齢では近位尿細管全体に精巣摘除90日齢のものとはほぼ同程度の拡張が観察され、小体は一部の尿細管の細胞質および管腔内に見られた。150日齢では拡張の程度は、精巣摘除90, 120日齢のものとはほぼ同様であったが、小体は尿細管全体に顕著に観察された(Fig. 3.)。

卵巣摘除群60, 90, 120日齢及び150日齢では拡張と小体は無処置群のそれに比べかなり減少した。特に、拡張についてはその差は明らかであった(Fig. 4.)。

エストラジオール投与群

無処置雄Eb群150日齢の腎臓では、拡張は精巣摘除群の同日齢のものとはほぼ同程度かそれよりやや強い程度で、小体もほとんど同程度の出現であった。精巣摘除Eb群150日齢では、精巣摘除群の同日齢のものよりもやや強い拡張と同程度の小体が観察された(Fig. 5.)。

テストステロン投与群

精巣摘除Tp群では、60, 90, 120日齢および150日齢のいずれにおいても拡張と小体は全く観察されなかった。無処置雄Tp群も同様で変化はなかった。無処置雌Tp群と卵巣摘除Tp群においても、無処置の雌で観察された顕著な拡張と小体はいずれの日齢においても全く観察されなかった(Fig. 6.)。

ごま油投与群

ごま油を投与した群は投与しなかった群と比べて差異は認められなかった。

NOD, NONマウス共に免疫不全の動物といわれ、あらゆる臓器にリンパ球を主とする細胞浸潤が現れるのが特徴とされる[3,9]。既に報告されているように、NONマウスはI型糖尿病のモデルであるNODマウスの垂系であり、耐糖尿異常は示す(雄は示すが、雌は示さない)が顕性糖尿は発症しないとされており、II型糖尿病のモデルとしての有用性が検討されている[9]。最近では糖尿病のモデルとしてだけでなく、糸球体類脂肪蓄積症のモデルとしての研究も進められて

いる [10]。

NON 雌のみに、腎尿管の拡張と酸好性でPAS陽性の小体が出現することが波多野 [3], Tanigawa [9] らによって、報告されたが、一般に尿管の拡張についての報告は少ない。また、ヒトの急性尿管壊死の腎生検で尿管の拡張像が報告されている [8] が、性ホルモンとの関連については明らかでない。Köenig ら [4] は雌マウスにテストステロンを投与することにより、尿管上皮に多くのライソゾームが出現し、開口分泌により尿管腔中へ放出されることを認めている。このライソゾームの増加は、マウスの近位尿管細胞における雄性ホルモン作用の特徴であると報告している。更に Köenig ら [5] はマウスにテストステロンを投与し、酸性フォスファターゼ、 β -グルクロニダーゼに反応する好塩基性のミエロイド小体の蓄積を認め、これがエキサイトトシスによって突出、分泌されることを報告している。

一方、マウスにおけるエストラジオールの腎臓に及ぼす作用についての報告は見られないが、Hacker ら [2] はシリアンハムスターの腎臓の近位尿管にエストロゲンで引き起こされる腫瘍を認め、Goldfarb ら [1] もまた、去勢されたシリアンハムスターでエストロゲンが高率に腫瘍を引き起こすことを報告している。

また、Oberley ら [6] はシリアンハムスターにエストロゲンを投与することにより近位尿管に rate positive nucleus が出現することから、これはエストロゲンによる特徴的なものであると報告している。

NON マウスに見られる酸好性でPAS陽性の小体は、テストステロン作用のミエロイド小体やエストロゲンで誘発される rate positive nucleus と類似しているが、今回の観察ではこれらの関係を明らかに出来なかった。しかしながら、今回の NON マウスに見られた小体と rate positive nucleus は、エストラジオールに強く影響されることから考えれば、同種のものである可能性も大きい。

NON マウスの腎臓の尿管拡張と小体の出現におけるエストラジオールの生理学的な役割は明らかではないが、今回、尿管の拡張や小体がステロイドで促進あるいは抑制されたことより、その発現機序については興味を持たれるところである。

又、糸球体嚢と近位尿管の細胞がテストステロン

に過形成で応答する [7] など、腎臓は性ホルモンの標的器官の一つであると言われている様に、NON マウスが今後、性ホルモンに関連する何らかのモデル動物になりえる可能性も捨てきれない。その有用性についても更に検討しなければならない。又、拡張と小体の出現は、共に性ホルモンに強く影響されることから、両者の因果関係についても更に検討していきたい。

要 約

NON マウス (Non-Obese Non-diabetic) の雌にのみ観察される腎臓の近位尿管の拡張と酸好性の小体の出現に及ぼす性ホルモンの影響について組織学的に検討した。雄マウスは精巣摘除により、弱い拡張と少数の小体が観察された。一方、雌マウスでは卵巣摘除により、それらの出現の程度が弱くなった。エストラジオール投与により、正常雄にも拡張と小体が出現した。テストステロンを投与された正常雌や精巣摘除および卵巣摘除雌には拡張と小体は認められなかった。以上の結果は、NON マウスの腎臓の尿管の拡張と小体の出現に、雌性ホルモンが促進的に雄性ホルモンが抑制的に作用することを示している。

文 献

- [1] Goldfarb, S. and Pugh, T. D., (1990). *Cancer Research.*, **50**, 113-119.
- [2] Hacker, H. J., Vollmer, G., Chiquet-Ehrismann, R., Bannasch, P., and Liehr, J. G., (1991). *Virchows Archiv B. Cell-Pathology*, **60**, 213-223.
- [3] 波多野弘美・鈴木秀作・谷川敬一郎・吾郷昭夫 (1988). 実験動物, **37**, 479-483.
- [4] Köenig, H., Goldstone, A., and Hughes, C., (1978). *Laboratory Investigation*, **39**, 4, 329.
- [5] Köenig, H., Goldstone, A., Blume, G., and Chung, Y. L., (1980). *Science*, **209**, 1023-1026.
- [6] Oberley, T. D., Gonzalez, A., Lauchner, L. J., Oberley, L. W., and Li, J. J., (1991). *Cancer Research*, **51**, 1922-1929.
- [7] Rossier, B. C., Geering, K., Atkinson, J., and Roch-Ramel, F., (1985). *Physiology and Pathophysiology*, **1**, 775-806.
- [8] 清水 章・益田幸成・杉崎祐一・山中宣昭 (1991). 日本病理学会誌, **60**, 113.
- [9] Tanigawa, K., Suzuki, S., Sahata, H., and Kato, Y., (1992). Current Concepts Of A New Animal Model, pp. 123-129, Sakamoto, N. Hotta, N., and Utida, K. (eds.).
- [10] 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団. (1990). 「疾患モデル動物の維持、分与等に関するアンケート」調査報告書.

Explanation of Figures

- Fig. 1. Light micrograph of the kidney in a female NON mouse (150-day-old). Note the striking dilatation of the urinary tubules (arrowheads). PAS. 4×3.3
- Fig. 2. Light micrograph of the dilated proximal tubules in a female NON mouse (150-day-old). Acidophil bodies (arrows) are observed in the cytoplasm. PAS. 40×3.3
- Fig. 3. Light micrograph of the proximal tubules in a castrated male NON mouse (150-day-old). The dilatation of the urinary tubules and the acidophil bodies (arrows) are observed. PAS. 40×3.3
- Fig. 4. Light micrograph of the kidney in an ovariectomized female NON mouse (150-day-old). The dilatation of the urinary tubules (arrowheads) are not strong compared to that of an intact female NON mouse at 150 days old (see Fig. 1.). PAS. 4×3.3
- Fig. 5. Light micrograph of the proximal tubules in a castrated male NON mouse treated with estradiol (150-day-old). The prominent dilatation of the urinary tubules and acidophil bodies (arrows) are noticed. PAS. 40×3.3
- Fig. 6. Light micrograph of the kidney in an ovariectomized female NON mouse treated with testosterone (150-day-old). The dilatation of the urinary tubules and the acidophil bodies are not observed. PAS. 4×3.3

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.