高血圧自然発症ラットの前立腺上皮細胞の形態的異常

中村ハルミ 杉本次郎 小島 隆 児玉和茂 武知雅人

三菱化成株式会社安全性研究所

板倉智敏 北海道大学獣医学部比較病理学教室

MORPHOLOGICAL ABNORMALITY OF THE EPITHELIUM IN THE PROSTATE GLAND OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

Harumi Nakamura, Jiro Sugimoto, Takashi Kojima, Kazushige Kodama, and Masato Takechi

Safety Research Laboratory, Mitsubishi Kasei Co., Ltd

Chitoshi Itakura Department of Comparative Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University

Abstract: Histopathological and electron microscopical studies were made on epithelial cells of the prostate gland in spontaneously hypertensive rats (SHR) and compared with those of Wistar-Kyoto rats (WKY).

The prostate gland tissue of SHR showed a developmental retardation at 5 weeks of age. At and after 18 weeks of age (terminal experimental age was 31 weeks), and glands were small in size with tall columnar epithelial cells, frequently protruding into the glandular lumens and scant secretory substance. On the other hand, the prostate of WKY had large-sized glands with small columnar or cuboidal epithelial cells and with abundant secretory substance.

Electron-microscopically, the cytoplasm of glandular epithelial cells of SHR had well-developed rough endoplasmic reticulum (RER), but Golgi apparatus was small in size and undeveloped. In addition, there were fewer condensed vacuoles and secretory granules.

From these findings, it was considered that transfer of secretory materials from RER to Golgi apparatus was congenitally disturbed and the secretory cycle was inhibited in the epithelium of the prostate gland of SHR. (*J Toxicol Pathol* 4: 183~193, 1991)

Key words: Spontaneously hypertensive rats, Prostate, Secretory disorder, Ultrastructure

緒 言

高血圧自然発症ラット spontaneously hypertensive rat (SHR) は、1963 年に京都大学の Okamoto と Aoki¹⁶ により Wistar-Kyoto rat (WKY) から作出された本態性高血圧症の疾患モデルである。我々は SHR の前立腺の上皮細胞が他の系統のラットに比べて丈が高く、腺自身も小型であることを認めた。このような前立腺の形態的異常につ

いての報告は見当たらない。なお、文献的には本系統の生殖器系の病変として、SHR および SHR の亜型である脳卒中易発症 SHR (SHRSP) の精細管を中心とした精巣病変が報告されている。それによると、その病変は高血圧性血管病変に起因したものと考えられている^{7,14,15,18}。

本論文では、SHR の前立腺の形態的異常を、WKY と比較しながら記述し、その変化の形態的発現機序について考察する。

材料および方法

1. 使用動物

4 週齢の SHR (星野試験動物) の雄 40 匹を平底

Accepted for publication: August 22, 1991

Mailing address: Harumi Nakamura, Safety Research Laboratory, Mitsubishi Kasei Co., Ltd., 1000 Kamoshida-cho, Midori-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 227, Japan.

ケージに2匹飼いにし、室温20～25℃、湿度40～77%、12時間照明(午前7時～午後7時)の条件下のコンベンショナル飼育室で飼育した。給与飼料はMF(オリエンタル酵母工業)で、これを水道水とともに自由に摂取させた。また、対照として同一条件下で飼育したWKYを用いた。これらの動物は5, 9, 18および31週齢時に10例ずつ無選択的に選んで計画殺し、以下に示す項目について検索した。

2. 検査項目

まず、飼育期間中の動物の一般状態および死亡の有無を休日を除き1日1回観察した。体重は週1回測定した。血圧測定は計画殺の直前に間接法により実施した。すなわち、ラット自動血圧測定装置PS-100(理研開発)を用い、尾動脈の最高血圧を測定した。

計画殺時のラットはギロチンによって断頭され、その際に採取した血清について、テストステロンとエストラジオールを三菱油化BCL(株)に依頼して測定した。この測定は性成熟する前の9週齢と成熟後の18ならびに31週齢のSHRおよびWKYと5匹ずつについて行った。

殺後のすべての動物については、肉眼観察を行って後前立腺を採材し、これを10%中性緩衝ホルマリンで固定した。組織標本は通常の方法に従い、ヘマトキシリン・エオジン(H.E.)染色標本作製した。さらに、計画殺したSHRおよびWKYから各々4例ずつを選び、電顕標本作製

した。すなわち、前立腺腹葉の一部を2.5%グルタルアル固定液、続いて1%四酸化オスミウム水溶液で固定し、Queto1812に包埋し、超薄切片は酢酸ウラニル・クエン酸鉛(U-Pb)で重染色した。切片は透過型電子顕微鏡日立H-7000型で観察した。

なお、体重、摂餌量、最高血圧、ホルモン測定値についてはYukms統計ライブラリーI(ユックムス)を用いて統計学的処理を行った。

成 績

1. 一般状態

飼育期間中、全動物に異常はみられなかった。

2. 体重、摂餌量

SHRおよびWKYの飼育期間中の体重の推移をFig. 1に、摂餌量の推移をFig. 2に示す。WKYに比べSHRの体重は8～10週齢を除き、飼育期間を通じて有意に低値を示したのに対し、摂餌量はWKYに比べSHRがほぼ飼育期間を通じて有意に高値を示した。

3. 血圧

5週齢を除く各週齢時における最高血圧の推移をFig. 3に示す。9週齢のWKYの血圧は平均 133 ± 6.1 mmHGであったのに対し、SHRのそれは平均 180 ± 21.5 mmHGと異常な高値を示した。両系統のラットとも、血圧は週齢を経るにつれて次第に高くなっていった。すなわち、WKYならびに

Fig. 1. Body weight (average $\pm$ S.D.) in WKY and SHR groups.

Analysis of significance by Student's *t* test: * $P < 0.05$ (compared with WKY).

Fig. 2. Food consumption (average $\pm$ S.D.) in WKY and SHR groups.
Analysis of significance by Student's *t* test: * $P < 0.05$ (compared with WKY).

Fig. 3. Blood pressure (average $\pm$ S.D.) in WKY and SHR groups.
Analysis of significance by Student's *t* test: * $P < 0.05$ (compared with WKY).

SHRのそれぞれの平均血圧は、18週齢で 146 ± 11.6 mmHG ならびに 201 ± 5.8 mmHG, 31週齢で 159 ± 23.7 mmHG ならびに 220 ± 11.4 mmHG で

あった。以上のように、いずれの値も WKY に比べ、SHR が有意に高い値を示した。

Table 1. Testosterone and Estradiol Levels in the Blood Serum

Age (weeks)	No. of rats examined ^{a)}	WKY		SHR	
		Testosterone ^{b)} (ng/ml)	Estradiol ^{c)} (pg/ml)	Testosterone ^{b)} (ng/ml)	Estradiol ^{c)} (pg/ml)
9	5	2.3 ± 1.2	$< 10 - 24^d)$	2.6 ± 0.7	$< 10^d)$
18	5	1.9 ± 0.8	$< 10 - 19^e)$	3.9 ± 2.4	$< 10 - 10^e)$
31	5	1.4 ± 0.8	$< 10^e)$	4.3 ± 2.8	$< 10^e)$

^{a)}: Number of rats examined in each WKY and SHR group.

^{b)}: Values are average $\pm$ S.D. No significance by Student's *t* test (compared with WKY group).

^{c)}: Values are minimum—maximum measured in each WKY and SHR group.

^{d)}: Analysis of significance by Wilcoxon test: $P < 0.05$ (compared with WKY group).

^{e)}: No significance by Wilcoxon test (compared with WKY group).

4. 血清テストステロンならびにエストラジオール

5 週齢を除く各計画殺日に採取した血清中のテストステロンならびにエストラジオールの測定値を **Table 1** に示す。いずれの週齢においても SHR のテストステロン値は WKY より高値を示したが、有意差はなかった。また、エストラジオールについても両系統間に有意差は認められなかった。

5. 肉眼所見

SHR の前立腺は、いずれの週齢においても

WKY に比べて小さく、18 および 31 週齢時には前立腺と精嚢を分離する際に、流出する帯黄色ゼラチン状の分泌物の量が WKY より明らかに少量であった。

6. 臓器重量

前立腺（腹葉，側葉，背葉を含む）の絶対重量ならびに相対重量を **Table 2** に示す。前立腺の絶対重量ならびに相対重量は、いずれの週齢においても WKY に比べ、SHR が有意に低値を示した。

Table 2. Weight of the Prostate at Necropsy

Age (weeks)	No. of rats examined ^{a)}	A.P.W. ^{b)} (g)		R.P.W. ^{c)} (100 g/BW)	
		WKY	SHR	WKY	SHR
5	10	0.11±0.02	0.08±0.01*	0.10±0.02	0.07±0.01*
9	10	0.63±0.06	0.55±0.06*	0.26±0.02	0.23±0.02*
18	10	1.18±0.09	1.03±0.07*	0.32±0.03	0.30±0.02*
31	10	1.36±0.12	1.15±0.08*	0.33±0.03	0.30±0.02*

^{a)}: Number of rats examined in each WKY and SHR group.

^{b)}: Values are average ±S.D. of absolute prostate weight.

Analysis of significance by Student's *t* test: *P<0.05 (compared with WKY group).

^{c)}: Values are average ±S.D. of relative prostate weight.

Analysis of significance by Student's *t* test: *P<0.05 (compared with WKY group).

Fig. 4. Prostate of WKY, 18 weeks old.

Glands are lined with dark cuboidal or columnar epithelial cells. H.E., stain. ×760.

Fig. 5. Prostate of WKY, 31 weeks old.

Glands are larger than those of 18 weeks old, which contained much secretory materials. The epithelial cells are cuboidal. H.E., stain. $\times 760$.

Fig. 6. Prostate of SHR, 18 weeks old.

Glands are narrowed and are lined with tall columnar epithelial cells, frequently showing papillary protrusions. Their cytoplasm is moderately clear with pale area in the free surface side. H.E., stain. $\times 760$.

7. 前立腺腹葉の病理組織学的所見 (Figs. 4~7)

WKY: 5 週齢では前立腺の腺の数は少なく, 全体的に腺構造は未発達で, 腺腔内の分泌液の量も少なかった。9 週齢では腺組織は発達し, 腺組織の

周囲の結合組織は疎になり, 腺腔内には分泌液の貯留も多くなっていた。性成熟後の 18 週齢になると腺構造はさらに発達し, 腺腔内の分泌液の量も増加し, 内張りする上皮細胞の形態は円柱状から立方状になっていた (Fig. 4)。31 週齢では腺腔内

Fig. 7. Prostate of SHR, 31 weeks old.

Almost the same structures as that in rats 18 weeks old (Fig. 3). H.E., stain. $\times 760$.

Fig. 8. Prostatic epithelial cells in WKY, 5 weeks old.

Well-developed rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus are observed. There are electron dense secretory granules in the cytoplasm near the free surface.

U-Pb stain. $\times 5,500$.

に分泌液が充満し、上皮細胞は丈の低い立方状ないしは扁平状であった (Fig. 5)。

SHR: 5週齢では腺の多くは未熟な上皮細胞で内張りされ、腺腔はスリット状で未発達な腺で構成され、**WKY** に比較して腺構造の発達が遅延し

ていた。9週齢においても全体的に腺は未だ発達不十分で、腺腔は狭く、分泌液の貯留もほとんどみられなかった。18週齢および31週齢においても、**WKY** に比較して腺腔は明らかに狭く、腔を内張りする上皮細胞は丈の高い円柱状で、上皮はし

ばしば乳頭状に腺腔内に突出していた (Figs. 6, 7)。

8. 前立腺腹葉上皮細胞の超微形態学的所見 (Figs. 8 ~15)

WKY: 5週齢の上皮細胞では, 細胞底部に存在する核の上層部に良く発達した粗面小胞体ならびにゴルジ装置が観察された。粗面小胞体は軽度

Fig. 9. Prostatic epithelial cells in WKY, 9 weeks old.

Well-developed rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus are observed. The former is frequently dilated. There are many electron dense secretory granules in the cytoplasm beneath the free surface. U-Pb stain. $\times 7,000$.

Fig. 10. Prostatic epithelial cells in WKY, 18 weeks old.

The sacs of rough endoplasmic reticulum are collapsed, but Golgi apparatus is markedly activated (enlarged) with Golgi vacuoles of various sizes. U-Pb stain. $\times 5,500$.

拡張し、その内腔には電子密度が中等度のほぼ均一な物質を入れていた。ゴルジ装置の腺腔側には、1層の限界膜に囲まれた大小の濃縮空胞が観察された。これらの濃縮空胞は粗粒子状で、オスミウムに中等度好性の物質を入れていた。細胞質の腺

腔に近い部分には、高電子密度の分泌顆粒が多くみられた (Fig. 8)。9週齢では5週齢に比べて細胞の丈が高くなり、粗面小胞体が細胞質全域に密に良く発達し、ゴルジ装置もさらに発達していた。また、分泌顆粒も増加していた (Fig. 9)。18週齢で

Fig. 11. Prostatic epithelial cells in WKY, 31 weeks old.
Rough endoplasmic reticulum is decreased in number and Golgi apparatus is small in size.
Secretory granules are fewer.
U-Pb stain. $\times 6,300$.

Fig. 12. Prostatic epithelial cells in SHR, 5 weeks old.
Rough endoplasmic reticulum is comparatively developed, but Golgi apparatus is small in size.
Some condensed vacuoles and granules are present in the Golgi area.
U-Pb stain. $\times 5,500$.

は9週齢に比べ、細胞の丈が低くなり、粗面小胞体は減少していたが、その腔は拡張していた。しかし、Fig. 10のように粗面小胞体腔が拡張せず、ゴルジ装置が著しく活性化している細胞もあった。31週齢では18週齢時より粗面小胞体は減少

し、ゴルジ装置は小さく、分泌顆粒が減少していた (Fig. 11)。

SHR: 5週齢ではWKYに比較してゴルジ装置は小型で、濃縮空胞ならびに分泌顆粒の数、大きさともに小さかった (Fig. 12)。9週齢では上皮細

Fig. 13. Prostatic epithelial cells in SHR, 9 weeks old.

Rough endoplasmic reticulum is relatively well-developed, but Golgi apparatus is small in size. Condensed vacuoles and granules are fewer. U-Pb stain. $\times 7,000$.

Fig. 14. Prostatic epithelial cells in SHR, 18 weeks old.

Rough endoplasmic reticulum is well-developed, but Golgi apparatus is undeveloped. Only a few secretory granules are seen. U-Pb stain. $\times 5,500$.

Fig. 15. Prostatic epithelial cells in SHR, 31 weeks old.

The intercellular gap is loose. Rough endoplasmic reticulum is well-developed, but it is not dilated. Only a few secretory granules are recognized. Golgi apparatus is small in size and undeveloped. U-Pb stain. $\times 5,500$.

胞は腫大し、粗面小胞体は密に発達していたにもかかわらず、ゴルジ装置は小型で、濃縮空胞も少なく、WKYに比較して分泌顆粒が明らかに少なかった(Fig. 13)。18週齢では上皮細胞は細長い円柱状を呈し、細胞質の大部分は拡張した粗面小胞体で占められていた。しかし、核上部の粗面小胞体の膜構造が不明瞭になり、遊離リボゾームが増加している細胞もあった。また、ゴルジ装置は小型で、濃縮空胞や分泌顆粒も少なかった(Fig. 14)。31週齢では、上皮細胞はさらに細長くなり、拡張を示さない粗面小胞体と小型のゴルジ装置がみられた他には、分泌顆粒を含め、その他の細胞小器官は18週齢とほぼ同様の形態を示していた(Fig. 15)。

考 察

前立腺の萎縮性変化は、全身性栄養障害、去勢^{4,6,8,10,11}あるいはbutyl benzyl phthalateの投与¹等によるアンドロゲン欠乏によって起こることが知られている。全身性栄養障害では、精巣や胸腺等の萎縮も伴われることが多い。しかし、今回のSHRでは一般状態、体重や摂餌量の推移には異常はなく、他の臓器にも萎縮性変化は認められなかった。また、組織学的に前立腺上皮に萎縮性変

化はなかった。以上の所見から、SHRにおける前立腺の変化は単なる萎縮性変化ではなく、臓器特異的なものとみなされる。

前立腺はアンドロゲン依存性であるので、その分泌低下時には萎縮し、組織学的には上皮細胞の消失、間質の増加が招来されることは良く知られた事実である。SHRの前立腺の変化は、アンドロゲン欠如で惹起されるような細胞自体の萎縮性変化ではなかった。なお、SHRの血中テストステロン値はWKYのそれに比べむしろ高かった。したがって、SHRの前立腺の変化は去勢等によるアンドロゲン欠乏による変化とは異質とみなされる。Rodriguez-Padilkaら¹⁷は、ラットにおいて血清テストステロン値の上昇を伴う精嚢と前立腺腹葉の重量減少を認め、これはテストステロンに対する副生殖腺の反応の低下によるものであろうと考察している。前立腺の重量減少と血清テストステロン値の上昇は我々のSHRでも同様に認められた。

SHRの前立腺の主な超微形態学的所見は分泌顆粒の合成障害を示唆するものであった。すなわち、粗面小胞体は良く発達しているにもかかわらず、ゴルジ装置は小型で、濃縮空胞と分泌顆粒が著しく少なかった。これは粗面小胞体からゴルジ

装置への蛋白の移送障害を示す変化と考えられた。このような蛋白の移送障害は、ATP レベルの低下によるエチオニンの脂肪肝^{2,5,12,13}、ラットの涙腺の微小管障害による蛋白分泌抑制⁹、ラットの十二指腸における Tunicamycin による腸粘膜分泌抑制⁹、低温や ATP 産生抑制によるモルモットの膵臓外分泌腺のチモーゲン顆粒生成抑制¹⁹、その他ラットの耳下腺の Brefeldin A による分泌物生成抑制²⁰ 等が知られている。これらの超微形態学的特徴としては、粗面小胞体腔の拡張、ゴルジ装置の萎縮、分泌顆粒の減少等が指摘されている。今回の SHR の基本的な超微形態学的変化は、それらの変化と比較的類似していた。以上の結果から、SHR の前立腺では、先天的に何らかの原因で粗面小胞体からゴルジ装置への蛋白の移送障害が起り、蛋白の合成ならびに分泌抑制が生じているものと推察される。

謝 辞 本研究を進めるにあたり、貴重な御意見を賜った順天堂大学医学部第二病理白井俊一教授に深謝致します。また、標本作製に協力を、そして貴重な御助言を頂いた当社研究所員、田中栄治、佐野文子、豊岡正好、神原由季、伊藤博子、梁川美奈、望月 淳、高橋愛諸氏に感謝致します。

文 献

1. Agarwal, DK, Maronpot, JC, LAMB, IV, and Kluwe, WM: Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems of male rats. *Toxicology* **35**: 189-206, 1985.
2. Baglio, CM and Farber, E: Ultrastructural consequences of biochemical lesions in the liver induced by ethionine. *Fed Proc* **24**: 556, 1965.
3. Busson-Mabillot, S, Chambaut-Gu-Rin A-M, Ovtracht L, Muller, P, and Rossignol, B: Microtubules and protein secretion in rat lacrimal glands: Localization of short-term effects of colchicine on the secretory process. *J Cell Biol* **95**: 105-117, 1982.
4. Dahl, E and Kjaerheim, A: The ultrastructure of the accessory sex organs of the male rat. II. The post-castration involution of the ventral, lateral and the dorsal prostate. *Z Zellforsch* **144**: 167-178, 1973.
5. Farber, E: Ethionine fatty liver (review). *Adv Lipid Res* **5**: 119, 1967.
6. Harkin, JC: An electron microscopic study of the castration changes in the rat prostate. *Endocrinology* **60**: 185-199, 1957.
7. Hazama, F, Ooshima, A, Tanaka, T, Tomimoto, K, and Okamoto, K: Vascular lesions in the various substrains of spontaneously hypertensive rats and effect of chronic salt ingestion. *Jpn Circ J* **39**: 7-22, 1975.
8. Helminen, HJ and Ericsson, JLE: Ultrastructural studies on prostatic involution in the rat. Changes in the secretory pathways. *J Ultrastruct Res* **40**: 152-166, 1972.
9. Kurihara, H, Ishikawa, K, and Fujita, H: Fine structural aspects of the effect of Tunicamycin on duodenal goblet cells of mice. *Biomed Res* **4**: 549-556, 1983.
10. Lee, C: Physiology of castration-induced regression in rat prostate. *In*: The Prostatic Cell: Structure and Function, part A: Morphologic, Secretory, and Biochemical Aspects. pp.145-159. GP Murphy, AA Sandberg, and JP Karr Eds, Liss, New York, 1981.
11. Lee, C and Holland JM: Genital system. *In*: Monographs on Pathway of Laboratory Animals pp. 239-251. TC Jones, U Mohr, and RD Hunt Eds, Springer-Verlag, Berlin, 1987.
12. Mori, M: Ultrastructural changes of hepatocyte organelles induced by chemicals and their relation to fat accumulation in the liver. *Acta Pathol Jpn* **33**: 911-922, 1983.
13. 森 道夫, 小川勝洋: 脂肪肝の病理と成因. 病理と臨床 **4**: 934-941, 1986.
14. 中田英浩: 高血圧自然発症ラットの睾丸動脈および睾丸組織の高血圧変化: とくに結合組織タンパク質を中心として. 日泌会誌 **75**: 927-933, 1984.
15. Nakada, T, Shigematsu, H, and Lovenberg, W: Testicular tissue injury of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat associated with increased protein synthesis in the testicular arteries. *Jpn J Fert Ster* **27**: 148-155, 1982.
16. Okamoto, K and Aoki, K: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* **27**: 282, 1963.
17. Rodriguez-Padilla, M, Bellido, C, Pinilla, L, and Aguilar, E: Secretion of LH in spontaneously hypertensive rats. *J Endocrinol* **113**: 255-260, 1987.
18. Suzuki, T, Yamamoto, K, and Okamoto, K: Hypertensive vascular changes of testes in SHRSP. *Jpn Heart J* **21**: 598, 1980.
19. Tartakoff, AM: Temperature and energy dependence of secretory protein transport in the exocrine pancreas. *EMBO J* **5**: 1477-1482, 1986.
20. Yamashina, S, Katsumata, O, and Tamaki, H: Morphological effects of Brefeldin A on the intracellular transport of secretory materials in parotid acinar cells. *Cell Struct Funct* **15**: 31-37, 1990.