学位論文題名

Pathological Study of a Newly Established Diabetic Rat Strain (WBN/Kob Rats)

(新たに確立されたラットの糖尿病系統 (WBN/Kob ラット)
に関する病理学的研究)

学位論文内容の要旨

糖尿病は医学臨床においては頻繁に見られる重篤な疾患の1つとされている。この病態解明のためには種々のモデル動物が利用されている。特に遺伝性糖尿病動物はモデルとしての有用性が高く、インスリン依存型糖尿病 (IDDM) モデルとして NOD マウスや BB ラット、インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) モデルとして KK マウスや db/db マウスなどが広く知られている。またヒト糖尿病では合併症も重要な研究課題とされ、モデル動物を用いての病理発生が解明されつつある。

近年、高齢の雄だけが高血糖、尿糖排泄、多尿および多飲・多渴を呈する近交系ラットが見いだされた。そこで著者は、本系統ラットの臨床像ならびに病理形態像の解析を行い、遺伝性糖尿病モデル動物としての有用性を検討した。得られた結果は次のように要約される。

1. 本系統の12~90週齢のラット総計273匹（雄131匹、雌142匹）について臨床的観察を行い、糖尿病の発現状況と病理変化を概観した。雄ラット群では、52~60週齢に達した頃より尿糖を排泄する例が散見されはじめた。発症例の症状は徐々に進行し、多尿および多飲・多渴が顕著になった。78週齢以上のほとんどの例は尿糖を排泄した。そして最終的には、これらの動物は消瘦し、例によっては白内障あるいは高脂血症を示した。雌には尿糖排泄は見られなかった。雄ラットの各週齢の平均血糖値は、12週齢：147.7±18.3mg/dl (n=12)、20週齢：138.0±10.2mg/dl (n=7)、33週齢：145.2±18.6mg/dl (n=12)、および60~90週齢：312.7±120.0mg/dl (n=36)であった。12週、21週および60週齢の雌雄に対する糖負荷試験の結果、60週齢の雄の耐糖能が著しく障害されていた。また、60週齢の雌と21週齢の雄では糖負荷後の血糖値の回復が若干遅延する傾向にあり、耐糖能の異常が示唆された。

病理組織学的検査の結果、60週齢以上の高齢ラットの膵臓はびまん性の線維化と脂肪組織によ

る実質の置換によって高度に萎縮し、島組織も顕著に萎縮・減数していた。

以上の他腎臓、眼球、坐骨神経において糖尿病に特徴的な合併病変が観察された。すなわち、腎臓の糸球体には diffuse 且つ global なメサンジウム領域の拡大およびフィブリン・キャップ様病変、尿細管には Armanni-Ebstein 病変および核糖原が認められた。肉眼的に白内障を呈した眼球では、水晶体線維の腫大、空胞化、断裂とモルガン氏球の形成からなる皮質白内障の像が見られた。坐骨神経では、神経周膜膠原線維の増生による神経線維間の疎開が顕著であり、軸索周囲腔の拡張とここへの大食細胞の侵入、軸索内グリコーゲン沈着が所見された。

以上のように、WBN/Kob ラットの雄は、耐糖能異常を示して後、高齢になって糖尿病を発症し、以後進行性の経過をたどった。腎臓、眼球、坐骨神経に認められた合併病変はヒト糖尿病患者のそれと類似していた。

2. 本系統の糖尿病発症の主因である膵臓病変の形成過程を明らかにする目的で、発症前の雄ラット（12, 16, 20, 21, 24, 33週齢）76匹と発症後の雄ラット（60~90週齢）55匹の膵臓を、病理学的ならびに免疫組織化学的に観察した。肉眼的には、24週齢以下のラットの膵臓には変化は認められなかったが、33週齢では実質内に黄色ないし暗褐色の斑点が多発し、60~90週齢では膵臓は暗褐色に着色して高度に萎縮し、薄い膜様であった。発症前ラットに共通した組織変化は多発性巣状炎症であり、同一個体においても部位によって様々な炎症像が見られた。病変は多中心性に発現し、以下の経過をたどって拡大した。①膵島周囲の出血と線維素の析出、②この周囲腺房組織への炎症性細胞浸潤と水腫、③膵島細胞および腺房細胞の変性、④組織構築の崩壊・消失、⑤肉芽組織の形成と再生性変化、⑥線維化と炎症性細胞の減少。発症ラットの膵臓は、前述したように内外両分泌組織の顕著な萎縮を伴って線維化を示した。この線維化は炎症の終末像とみなされ、線維化巣内には再生性島細胞の小集簇、導管の増殖、ヘモジデリン貪食細胞の集積が認められた。発症ラットの膵島の大きさは、対照とした Wistar ラットのそれに比較し有意に小さかった。膵島の免疫組織化学的観察では、B細胞とA細胞は加齢に伴って激減していた。また、高齢ラットではB細胞比の減少が顕著であった。

以上のように、WBN/Kob 雄ラットでは、膵臓に特異な炎症性変化が見られ、その過程において内分泌細胞が崩壊と再生を繰り返す、結果的にB細胞比の減少がもたらされ、糖尿病が生じると解された。

3. 糖尿病性合併症の1つである腎尿細管病変を明らかにする目的で、総計72匹の高齢雄ラット（60~120週齢）について、光顕的ならびに電顕的に検索した。Armanni-Ebstein 病変は主に遠位尿管と集合管上皮にネフロン単位で発現し、HE染色では細胞質の完全な空胞化と

して認められた。電顕的には細胞質内に様々な量の β 型グリコーゲン顆粒が蓄積していた。この蓄積は高度な場合は細胞質の大部分を占め、細胞小器官は核周囲あるいは細胞辺縁へ圧排されていた。グリコーゲンの蓄積が少量の場合は、グリコーゲンは核上部に集塊を作って蓄積し、同時に層板状または小胞状構造を含むライソゾームが共存していた。ライソゾームは時折グリコーゲン顆粒を含み、顆粒の処理・排出に関与していると考えられた。核糖原はヘンレのわなの上行脚に散在性に認められた。腎組織を樹脂包埋した厚切り切片に、PAS染色を施して観察したところ、均質無構造な陽性物質（核糖原）の他にPAS強陽性の微小球状体が認められた。この球状体は、電顕的には β 型グリコーゲン顆粒が様々な大きさと密度で核のほぼ中央に集積した構造をなしていた。グリコーゲン顆粒の集塊は膜に取り囲まれておらず、核膜に接することもなかった。核内にはその他にglycogen bodyが認められ、これは光顕的なPAS強陽性の微小球状体に一致すると思われた。glycogen bodyの周囲は、繊細な線維状あるいは無構造な物質からなるハローによって取り囲まれ、中にはグリコーゲン顆粒が密に詰まっていた。また、まれにglycogen bodyに類似のハローを有するnuclear bodyも認められた。これらの小体は核内の不要な物質を隔離した構造と考えられた。細胞質内および核内のグリコーゲン沈着量は血糖値の上昇に伴って増加した。

このようにWBN/Kobラットの糖尿病性腎尿細管病変は、基本的にはヒトおよび他のモデル動物のそれに類似していた。また、この病変の病理発生の詳細は不明であるが、いずれも持続的な高血糖に起因すると考えられた。

4. 本系統の糖尿病は、遅発性（成人型）に発生し、若い時期（21週齢頃）に耐糖能が障害されることなどから、インスリン非依存型に属するものであった。本系統の膵臓病変は、12週齢という若い時代でも認められた急性多発性炎症性病変の、長期にわたる慢性化（線維化あるいは瘢痕化）病変を基本としていた。この膵臓病変は、ヒトの糖尿病のI型ならびにII型病変、あるいは過去に報告された本病のモデル動物の病変とは若干異なるところがあった。しかし、その原発性ならびに合併病変、および臨床過程と遺伝性は、本系統がヒトの疾患モデルに充分なり得ることを示し、今後の有用性が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 板 倉 智 敏
副 査 教 授 波 岡 茂 郎
副 査 教 授 杉 村 誠
副 査 教 授 菅 野 富 夫

糖尿病はヒトでは頻繁に起こり、その病態は膵臓の病型あるいは病期により多様である。また、本病では膵臓以外の病変も合併症として重要視されている。これらの病態解明には種々のモデル動物が利用されている。

申請者は、新しく確立されたラットの遺伝性糖尿病系統（WBN/Kob）について、臨床学的並びに病理学的研究を行った。本論文は英文85頁からなり、参考論文5編を付している。

第1章では、本系統の12～90週齢のラット計273匹（雄131匹、雌142匹）について臨床学的並びに病理学的に観察した。その結果、雄ラットのみが、52～60週齢頃より糖尿を排泄し始めた。尿糖例は、多尿および多飲・多渴を顕著に示し、これは徐々に進行した。78週齢以上ではほとんどの例が尿糖を排泄し、最終的には消瘦し、例によっては白内障あるいは高脂血症を示した。雌には尿糖排泄は見られなかった。12週、21週および60週齢の雌雄に対する糖負荷試験の結果、60週齢の雄の耐糖能が著しく障害されていた。

病理組織学的検査の結果、60週齢以上の高齢ラットの膵臓は、び慢性線維化と脂肪組織による実質の置換によって高度に萎縮し、島組織も顕著に萎縮・減数していた。また、腎臓、眼球、坐骨神経においてヒトの糖尿病におけると同様、特徴的な合併病変が観察された。すなわち、腎臓の糸球体には、び慢性のメサンギウム領域の拡大およびフィブリン・キャップ様病変、尿細管には Armani-Ebstein 病変および核糖原が認められた。眼球では、水晶体線維の腫大、空胞化、断裂とモルガン氏球の形成からなる皮質白内障が見られた。坐骨神経では、神経周膜膠原線維の増大による神経線維間の疎開が顕著であり、軸索周囲腔の拡張とここへの大食細胞の侵入、軸索内グリコーゲン沈着も所見された。

第2章では、本系統の膵臓病変の形成過程を明らかにする目的で、発症前の雄ラット（12、16、20、21、24、33週齢）76匹と発症後の雄ラット（60～90週齢）55匹の膵臓を、形態学的に観察した。発症前のラットに共通した組織変化は多発性巣状性炎症で、以下の経過をたどって拡大した。

①膵島周囲の出血と線維素の析出、②この周囲腺房組織への炎症性細胞浸潤と水腫、③膵島細胞

および腺房細胞の変性、④組織構築の崩壊・消失、⑤肉芽組織の形成と再生性変化、⑥線維化と炎症性細胞の減少。結局、発症ラットの膵臓は、内外兩分泌組織の顕著な萎縮を伴った線維化を示した。この線維化は炎症の終末像とみなされ、線維化巣内には再生島細胞の小集簇、導管の増殖、ヘモジデリン貪食細胞の集積が認められた。膵島の免疫組織化学的観察では、B細胞とA細胞は加齢に伴って激減していた。また、高齢ラットではB細胞比の減少が顕著であった。以上のように、本系統の雄ラットでは、膵臓に特異な炎症性変化が見られ、その過程において内分泌細胞が崩壊と再生を繰り返し、結果的にB細胞比が減少し、糖尿病が生じると解された。

第3章では、本系統に生じる糖尿病性合併症の1つである腎尿細管病変を詳しく解析するため、計72匹の高齢雄ラット（60～120週齢）を検索した。Armanni-Ebstein 病変は主に遠位曲尿細管と集合管上皮にネフロン単位で発現し、これはHE染色では細胞質の完全な空胞化として、電顕的には細胞質内に様々な量の β 型グリコーゲン顆粒の蓄積として認められた。核糖原はヘンレのわなの上行脚に散在性に認められた。腎組織を樹脂包埋した厚切り切片に、PAS染色を施して観察したところ、均質無構造な陽性物質（核糖原）の他にPAS強陽性の微小球状体が認められた。この球状体は、電顕的には β 型グリコーゲン顆粒が様々な大きさと密度で核のほぼ中央に集積した構造をなしていた。核内にはその他に glycogen body が認められ、これは光顕的なPAS強陽性の微小球状体に一致していた。また、まれに glycogen body に類似の、ハローを有する nuclear body も認められた。これらの小体は核内の不要な物質を隔離した構造と考えられた。細胞質内および核内のグリコーゲン沈着量は血糖値の上昇に伴って増加した。以上の尿細管病変の病理発生の詳細は不明であるが、いずれも持続的な高血糖に起因すると考えられた。

このように、申請者は、本系統の糖尿病は、若い時期（21週齢頃）に耐糖能が障害され、遅発性に発生することを明らかにした。そして本系統の膵臓病変は、12週齢という若い時代から認められる急性多発性炎症性病変の、長期にわたる慢性化（線維化あるいは瘢痕化）病変を基幹とすることを明らかにした。かくして、本系統の糖尿病の原発性並びに合併病変、および臨床過程と遺伝性は、ヒトの疾患モデルとしての有用性が極めて高い。よって、審査員一同は、申請者土谷稔氏が、獣医学博士の学位を受ける資格あると認める。